

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU DÉPISTAGE BIOLOGIQUE DE L'HÉMOLYSE

ETUDE STATISTIQUE DE QUELQUES TESTS
PRATIQUÉS SYSTÉMATIQUEMENT CHEZ 1 000 MALADES

Travail du Laboratoire d'Immuno-Hématologie
du Centre de Transfusion Sanguine de Lyon

THÈSE

présentée

A LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 12 Janvier 1965
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

PAR

Bruno CHATAING

né le 31 août 1934 à Allevard-les-Bains (Isère)

Imprimerie BASCOU FRÈRES
42, rue Sala - LYON

1965

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU DÉPISTAGE BIOLOGIQUE DE L'HÉMOLYSE

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1965

N° 4

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU DÉPISTAGE BIOLOGIQUE DE L'HÉMOLYSE

ETUDE STATISTIQUE DE QUELQUES TESTS PRATIQUÉS SYSTÉMATIQUEMENT CHEZ 1 000 MALADES

Travail du Laboratoire d'Immuno-Hématologie
du Centre de Transfusion Sanguine de Lyon

THÈSE

présentée

A LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 12 Janvier 1965
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

PAR

Bruno CHATAING

né le 31 août 1934 à Allevard-les-Bains (Isère)

Imprimerie BASCOU FRÈRES
42, rue Sala - LYON

—
1965



PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyens honoraires : M. J. LÉPINE, Membre de l'Institut. - M. H. HERMANN, Correspondant de l'Institut.
Doyen : M. J.-F. CIER. Assesseurs : MM. M. LEVRAT, L. REVOL,

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. COLLET, GUIART, PATEL, LÉPINE, TRILLAT, MOURIQUAND, MAZEL, GARIN, GATÉ, MARTIN, GABRIELLE, SANTY, DUCLOS, GUILLEMINET, HERMANN, ROCHET, POLLOSSON.

PROFESSEURS

MM.			
CIBERT	Clinique urologique.	GUICHARD	Anatomie pathologique.
PONTHUS (détaché à Beyrouth)	Physique biologique.	GIRARD Paul	Pathologie générale et expérim.
DESCHAUME	Clinique neuro-psychiatrique et d'hygiène mentale.	LATARJET	Anatomie.
CHAMBON	Chimie organique et toxicologie.	PEYCELON	Pathologie chirurgicale
WERTHEIMER	Clinique chirurgicale B.	GIRARD Marcel	Clinique médicale B
P.-RAVAULT	Clinique médicale B.	VACHON	Pathologie médicale.
FROMENT	Clinique et prophyl. cardio-vasc.	GALY	Physio-pathol. des voies respirat.
CROIZAT	Clinique médicale C.	PAPILLON	Radiologie.
ENSELME	Chimie biologique et médicale.	JEUNE	Clinique médicale infantile et hygiène du premier âge.
MALLET-GUY	Clinique chirurgicale A.	GONIN	Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale.
REVOL	Pharmacie galénique.	MONNET	Bactériologie.
PIGNAUD	Clinique obstétricale.	BANSSILLON	Physiol. et pathol. obstétricales.
BOURRET	Médecine du travail.	CHATONNET	Physiologie B.
LEVRAT	Clinique médicale A.	GUINET Paul	Clinique endocrinologique.
SOHIER	Hygiène et action sanitaire et soc.	TRILLAT	Clinique de chirurgie orthopéd.
NETIEN	Botanique et cryptogamie.	FRÉDEL Charles	Clinique stomatologique.
BERTRAND	Clinique chirurgicale C.	MARION J.	Clin. de chirur. et d'orthop. infantiles
BADINAND	Chimie analytique pharmacut.	DORCHE	Matière médicale et législation phar.
DREVON	Pharmacie chim. et pharmacologie	DUMONT Louis	Histologie et embryologie.
ROCHE	Médecine légale et déontologie.	PERROT	Chimie.
COUDERT	Parasitologie et pathologie exot.	CIER J.F.	Physiologie A.
MOUNIER-KUHN	Clinique d'oto-rhino-laryngologie et d'audio-phonologie.	PERRIN J.	Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire.
PAUFIQUE	Clinique ophtalmologique.	MICHAUD Pierre	Clinique de chirurgie cardiaque.
THIERS	Clinique de dermatologie, syphiligraphie et allergologie.	X....	Clinique des maladies infectieuses.
BRUN	Clinique de pneumo-ptisiologie.	X....	Biologie médic. et pharmacodyn.
CREYSSEL	Cliniq. chirur. orthop. et traum.	X....	Clinique gynécologique.
DARGENT	Clinique carcinologique.	X....	Thérapeutique.

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

BERGER	Phys. nucléaire appliq. à la méd.	LIARAS	Clinique chirur. Propédeutique.
BERTOYE	Bactériologie.	LEGUIRE	Neuro-chirurgie.
MANSUY	Neuro-chirurgie.	REVOL Louis	Médecine générale.
COLLET	Chimie générale et pharmacut.	GOINARD	Thérapeutique chirurgicale
SARROUY	Clinique de pédiatrie.	CIER André	Pharmacie chimiq. et pharmaco.
LACROIX	Hygiène et clinique des maladies des pays chauds.	PONT Maurice	Médecine générale

PROFESSEURS SANS CHAIRE

ROMAN	Parasitologie.	DE SOLLIERS	Chimie analytique.
FEROLDI	Anatomie pathologique.	DESPIERRES C.	Médecine générale.
MORET Robert	Physique biologique.	TOLOT François	Médecine du travail.
ODDOUX Lucien	Botanique et cryptogamie.	GARIN Jean-Paul	Parasitologie.

MAITRES DE CONFÉRENCES-AGRÉGÉS TITULAIRES

CREYSSEL Roger	Chimie biologique.	MICHEL	Anesthésiologie.
THIVOLET Jean	Hygiène.	FRANÇOIS René	Pédiatrie et puériculture.
PINET	Electro-radiologie.	MICHOULIER	Chirurgie générale.
GUYOTAT Jean	Neuro-psychiatrie.	COLOMBE Daniel	Dermatologie.
DESCÔTES J.	Chirurgie générale.	LAMBERT	Médecine générale.
JOUVET	Pathologie expérimentale.	FRIES	Médecine générale.
PREYRIN	Physique biologique.	GILLY	Pédiatrie.
TOMMASI	Anatomie pathologique.	ROBERT	Médecine générale.
BUFFARD	Electro-radiologie.	BOUCHET Alain	Anatomie.
LEJEUNE	Médecine génér. et thérapeutique	BETHENOD	Pédiatrie
DE MOURGUES F.	Stomatologie.	GERMAIN	Immunologie - Sérologie - Hémato.
NAUSSAC	Maladies infectieuses	LARBRE François	Pédiatrie
REBOUILLAT	Chirurgie générale.	SOUSTELLE	Chirurgie générale
ROMAGNY	Pédiatrie.	VIALA	Médecine générale.
DELAHAYE J.P.	Médecine générale.	VINCENT	Bactériol. - Parasitologie - Virologie
DELEUZE R.	Anesthésiologie.	KALB J.-Claude	Pneumo-ptisiologie.
GIRAUD M.	Electro-rad. diagn. et thérapeut.		

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS STAGIAIRES

FAVRE-GILLY J.	Hématologie.	FAUCON	Biologie méd. et pharmacodynam.
GIROD	Histologie et embryologie.	FLANDROIS	Physiologie.
GRAS Jean	Chimie biologique.	VIALIER-RAYNARD	Bactériologie.
MALLEIN René	Chimie analytique.	ROLLET	Pharmacie Galénique
RIFFAT Georges.	Hygiène.		

AGRÉGÉS EN EXERCICE

BONAMOUR G.	Ophtalmologie.	GAILLARD Jean	Oto-rhino-laryngologie.
COLIN Marcel	Médecine légale.	GARDE A.	Médecine générale.
DE MOURGUES G.	Chirurgie générale.	HUGONNIER R.	Ophtalmologie.
DEVIC Michel	Médecine générale.	MARET Gilbert	Chirurgie générale.
DUMONT Martial	Obstétrique.	MORNEX René	Médecine générale.
DURAND Louis	Urologie.	NORMAND Jean	Médecine générale.
FRANCILLON J.	Chirurgie générale.	PERRIN André	Médecine générale.
SAUBIER Eugène	Chirurgie générale.	DUMAS P.	Stomatologie.
SCHOTT Bernard	Neuro-psychiatrie.	GARMIER	Obstétrique.
ALLÈGRE G.	Neuro-chirurgie.	NOEL Gilbert	Médecine générale.
CHASSARD J.-L.	Electro-radiologie.	SCHNEFF	Orthopédie.
FATYSSÉ Robert	Orthopédie.		

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Président : P^r P. CROIZAT ; Assesseurs : P^{rs} L. REVOL, M. PLAUCHU, J.-J. VIALA.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

A MA FEMME

A MES ENFANTS

A MES BEAUX-PARENTS

A TOUS LES MIENS

*et tout particulièrement
à ceux sans qui je n'aurais pu entreprendre
ni mener à bien ces études :*

A MON FRÈRE, LE DOCTEUR P. CHATAING

A MES BEAUX-FRÈRES, LES DOCTEURS J. BONNET-EYMARD

ET P.A. BONNET

A TOUS MES AMIS

A NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR PIERRE CROIZAT

Au cours de deux semestres passés dans son Service, nous avons appris à respecter l'étendue de son savoir et de sa culture, la finesse de son esprit et la grande bienveillance qu'il témoigne autant à ses malades qu'à ses élèves.

Qu'il trouve dans ce travail l'assurance de notre attachement.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A NOS MAITRES ET MEMBRES DE NOTRE JURY

MONSIEUR LE PROFESSEUR LOUIS REVOL

Ses qualités professionnelles exemplaires, ses connaissances immenses qui débordent largement le cadre de l'hématologie, son amour profond et sincère de ses malades font de lui le modèle vivant du Médecin.

Nous avons trouvé près de lui une sollicitude constante et un soutien sans faille.

Puisse la confiance qu'il nous témoigne ne jamais être trahie.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ MARCEL PLAUCHU

Nous avons passé auprès de lui un semestre inoubliable. La vigueur de son esprit, le dynamisme qu'il rayonne se joignent à une bonté inépuisable.

Nous sommes très honoré qu'il ait accepté de juger ce travail et l'assurons de notre très sincère et très respectueuse affection.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ JEAN-JACQUES VIALA

Après un semestre passé à ses côtés, nous avons pu apprécier sa curiosité scientifique inlassable et son enthousiasme débordant.

Qu'il soit assuré de notre entier dévouement.

MONSIEUR LE DOCTEUR ANDRÉ JOUVENCEAUX

La précision de sa pensée, la clarté et la pondération de son jugement, la minutie de ses analyses nous ont séduit.

Puisse ce travail, qui lui tient tant à cœur, ne pas trop le décevoir.

A NOS MAITRES DANS LES HOPITAUX

EXTERNAT :

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ R. DESJACQUES

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. MATHIEU

MONSIEUR LE PROFESSEUR F. TOLOT

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. CIBERT

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. CROIZAT ET

MONSIEUR LE PROFESSEUR L. REVOL

MONSIEUR LE DOCTEUR P. LAGÈZE ET

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. GALY

INTERNAT :

MONSIEUR LE PROFESSEUR F. TOLOT

MONSIEUR LE DOCTEUR CH. OLLAGNIER

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ M. PLAUCHU

MONSIEUR LE PROFESSEUR M. GIRARD

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. CROIZAT ET

MONSIEUR LE PROFESSEUR L. REVOL

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ J. TRAEGER

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. GONIN ET

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ J.-P. DELAHAYE

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. GUINET ET

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ R. MORNEX

INTRODUCTION

Les découvertes récentes en matière de maladie hémolytique, la description de syndromes hémolytiques au cours de maladies très diverses, conduisent les médecins à demander de plus en plus fréquemment la recherche de signes biologiques d'hyperhémolyse, soit qu'un ou plusieurs symptômes cliniques évoquent une destruction exagérée de globules rouges, soit que la maladie en cause soit réputée s'accompagner souvent de celle-ci, soit enfin de façon systématique.

C'est ainsi qu'au Centre de Transfusion Sanguine de Lyon, le Laboratoire d'Immuno-Hématologie (Dr JOUVENCEAUX), fonctionnant depuis 1951, a exécuté près de 9 000 recherches de signes biologiques d'hémolyse au cours de maladies extrêmement diverses. Une étude statistique, datant de 1958, avait déjà envisagé les résultats de 2 400 examens.

Nous avons choisi d'étudier 1 000 examens pratiqués chez 1 000 malades sur une période qui s'étend de janvier 1963 à mai 1964. Le recrutement de ces malades, à l'exclusion des nouveau-nés porteurs d'une iso-immunisation, et des accidents transfusionnels, s'est effectué dans la plupart des Services Hospitaliers de Lyon* et de ses environs immédiats avec une importance plus nette et logique de la Clinique Médicale C — Pr CROIZAT, Pr REVOL (seul Service d'Hématologie de Lyon) et des Services de Pédiatrie.

(*) — Services de MM. BERNHEIM (†), BERTOYE, BÉTHENOD, BRUN, CROIZAT, DEVIC, FRANÇOIS, FROMENT, GIRARD M., GONIN, GUICHARD, GUILLEMIN, GUINET, JEUNE, LARBRE, LEVRAT, MICHAUD, MONNET, PAUPERT-RAVAULT et LEJEUNE, PLAUCHU, PONT, REVOL, ROCHE, SARROUY, TOLOT, TRAEGER, VACHON.

— Services Hospitaliers des villes voisines : MM. CHASSARD, DHERS, PRADON.

— Dr BRIZARD (C.T.S. Saint-Etienne), Dr CIAVATTI.

Nous remercions vivement MM. les Chefs de Service des facilités qu'ils nous ont accordées pour consulter leurs dossiers.

Ce choix de 1 000 examens a été guidé par les raisons suivantes :

1^o On peut considérer qu'ils représentent un échantillon valable, statistiquement parlant, de la masse d'examens pratiqués en raison de leur nombre élevé (1/9), de l'intervalle de temps de 1 an, et enfin de l'éventail pathologique très large qu'ils recouvrent. Par ailleurs, ce choix présente un avantage pratique certain sur le plan statistique.

2^o D'autre part, ils s'étendent sur une période récente et ont donc bénéficié des dernières améliorations techniques, d'une standardisation plus poussée permettant une étude de résultats homogènes.

Bien entendu, il ne peut être question, dans une recherche systématique d'une hyperhémolyse biologique, de pratiquer tous les tests possibles qui ont été décrits. C'est pourquoi nous nous sommes limités à quelques tests dont nous expliquerons le choix, lorsque nous n'avons pas été conduits par nos découvertes à des recherches plus poussées.

Le but de ce travail n'est donc pas une étude exhaustive des maladies hémolytiques, mais une revue des problèmes posés au laboratoire par l'interprétation des résultats des différents tests pratiqués, d'une part, et une revue panoramique des différentes maladies hémolytiques découvertes pendant la période envisagée.

Nous nous proposons, après un bref rappel physio-pathologique, d'exposer les tests utilisés avec leur technique, les raisons de leur choix et les résultats qu'ils nous ont donnés chez des sujets normaux, puis nous étudierons, de façon critique, les résultats de chacun de ces tests au cours des différentes affections pour tenter d'éclairer le laboratoire sur la signification des perturbations observées. Enfin, nous prendrons le problème en sens inverse, en étudiant le comportement des différentes maladies vis-à-vis des tests pratiqués, en essayant de donner au clinicien une idée de la fréquence des troubles biologiques observés dans une maladie donnée.

CHAPITRE PREMIER

RAPPEL PHYSIO-PATHOLOGIQUE

A. - PHYSIOLOGIE DE L'HÉMOLYSE NORMALE

Physiologiquement, les globules rouges (G.R.) sont détruits au bout d'un laps de temps évalué de 100 à 120 jours selon les auteurs.

Cette durée de vie normale est sous la dépendance de deux facteurs :

- l'intégrité de la membrane globulaire ;
- le bon fonctionnement du métabolisme intraglobulaire. Celui-ci est assuré par une glycolyse suivant deux voies distinctes et d'importance très différente : la voie anaérobie, qui est la plus largement utilisée (90 %) et met en œuvre une série d'enzymes (diphosphoglycérémotase, pyruvate-kinase... et le DPN) avant d'aboutir à l'acide lactique ;
- la voie aérobie, plus discrète (10 %), utilisant ses enzymes propres (glucose-6-phosphate-déshydrogénase (*) et le TPN).

Il semble que l'érythrolyse normale survienne lorsque ces enzymes sont épuisés, puisqu'ils ne peuvent être renouvelés en l'absence de noyau, l'hématie disparaissant par érythrophagocytose dans tout le système réticulo-endothélial, moins dans la rate comme on le pensait que dans la moelle osseuse (MIESCHER-ERHENSTEIN and LOCKNER).

L'hémoglobine, libérée par la destruction du G.R., subit une série de transformations qui la conduit à la bilirubine libre ou indirecte tandis que le fer pris en charge par l'hémosidérine

(*) ou G. 6 P.D.

plasmatique sera véhiculé jusqu'aux organes de dépôt où il sera stocké sous forme de ferritine.

Quantitativement, l'hémoglobine libérée chaque jour est donnée par la formule $\frac{340 \times 2,08}{120} = 5,9 \text{ g.}$

340 représentant le poids en grammes de l'hémoglobine par litre de globules ;

2,08, le volume globulaire chez un individu moyen de 70 kg ;
120, la durée de vie globulaire.

Comme 1 g d'hémoglobine donne naissance à 35 mg de bilirubine, c'est environ 200 mg de cette substance qui devront être éliminés chaque jour, sans compter les produits de dégradation de l'hémoglobine apparus au cours de l'hémoglobino-poïèse.

Cette bilirubine est transportée au foie qui l'éliminera au point de permettre le maintien à un taux très bas de la bilirubinémie.

Cette élimination se fait après glycuro-conjugaison, par les voies biliaires et l'intestin où la bilirubine subira une série de transformations donnant naissance à un certain nombre de corps appelés globalement urobilinoïdes. Ces derniers, après avoir été ramenés au foie par un cycle entéro-hépatique seront excrétés pour 99 % dans les fèces et 1 % dans les urines.

B. - HÉMOLYSE PATHOLOGIQUE

L'augmentation de la destruction globulaire se traduit cliniquement et biologiquement par deux ordres de conséquences :

- la tendance à l'anémie, et comme corollaire l'effort médullaire de régénération sanguine ;
- l'exagération du catabolisme de l'hémoglobine et, par conséquent, l'augmentation de ses catabolites tant dans le sang que dans les excréta, lorsque ce n'est pas l'hémoglobine elle-même libérée brutalement en grande quantité qui apparaît dans le plasma et dans les urines.

a) *Cliniquement,*

L'anémie est d'importance variable, parfois absente, parfois accompagnée de fièvre. Elle s'associe à un ictère souvent discret, subictérique, avec hypercoloration des urines, sans décoloration des selles. Enfin, la splénomégalie est habituelle, volontiers modérée, mais parfois très importante.

Les éléments de cette triade sont susceptibles de variations, s'aggravant simultanément au cours des poussées hémolytiques.

Plus rarement, et dans des circonstances particulières, le tableau clinique peut être différent, aigu ou suraigu, avec frissons, température, déglobulisation brutale, s'accompagnant alors d'hémoglobinurie.

b) *Biologiquement,*

la mise en évidence de l'hyperhémolyse se basera sur la recherche de l'hypercatabolisme hémoglobinique et des stigmates de régénération sanguine qui sont les conséquences physio-pathologiques de l'hémolyse. Quant au mécanisme exact de cette hémolyse, il dépend des circonstances étiopathogéniques dans lesquelles elle survient. Nous envisagerons donc successivement les tests qui permettent d'affirmer la réalité d'une hyperhémolyse, et ceux qui permettent d'en déterminer la cause.

1^o CONSÉQUENCES PHYSIO-PATHOLOGIQUES BIOLOGIQUES.

L'HYPERCATABOLISME DE L'HÉMOGLOBINE

Dans le sang.

L'hémoglobininémie. Le taux normal de l'hémoglobininémie est le plus souvent inférieur à 1 mg/100 ml dans la mesure où le prélèvement a été fait avec beaucoup de soins pour éviter une destruction globulaire mécanique.

L'augmentation de ce taux signe à l'évidence l'hémolyse, mais de siège intravasculaire, ce qui est un phénomène assez rare.

Plus sensible est le taux de l'*haptoglobine* qui forme, avec l'hémoglobine plasmatique, un complexe. Lorsque l'hémolyse augmente, le taux des alpha-2-globulines avec lesquelles migre l'haptoglobine s'abaisse de façon importante. Mais les larges variations physiologiques du taux d'haptoglobine en rendent l'interprétation délicate.

Certains auteurs proposent la recherche de la *méthémalbumine*, produit de dégradation de l'hémoglobine lié à une protéine plasmatique. Elle apparaît au cours des hémolyses intravasculaires même lorsque l'hémoglobinémie n'est pas retrouvée. Cette recherche s'effectue au spectrophotomètre, soit directement, soit par le test de Schumm. Dans les 2 cas, apparaît une bande d'absorption déterminée.

L'hyperbilirubinémie libre : le taux normal de la bilirubinémie libre ne dépasse pas 1 mg/100 ml. Son augmentation, au cours des maladies hémolytiques, est en général modérée. Ceci n'est pas surprenant puisque, si toute l'hémoglobine d'un individu était transformée en bilirubine, celle-ci serait excrétée par le foie après glycuco-conjugaison en 10 à 12 heures (BILLING et LATHE).

L'hypersidérémie à plus de 150 gamma est plus accessoire, car peu spécifique, pouvant se rencontrer dans bien d'autres affections qu'hémolytiques.

Dans les urines.

L'hémoglobinurie est un signe majeur d'hémolyse dans la mesure où on la distingue d'une hématurie. Elle apparaît lorsque l'hémoglobinémie dépasse 135 mg/100 ml de plasma.

L'hémosidérinurie est un équivalent mineur de la précédente et, comme elle, est inconstante.

L'urobilinurie peut apporter un élément de présomption malgré la faible part urinaire de l'élimination des urobilinoïdes. Non spécifique lorsqu'elle est accompagnée de bilirubinurie (affections hépatiques), elle garde sa valeur lorsqu'elle est isolée.

Dans les fèces.

L'augmentation des urobilinoïdes y est considérable, dépassant de beaucoup les limites physiologiques pourtant larges (40 à 240 mg). Par ailleurs, cette élimination est fonction du taux de l'hémoglobine circulante, ce qui a conduit certains auteurs à définir un index hémolytique qui est le rapport

$$\frac{\text{urobilinoïdes des fèces de 24 h en mg} \times 100}{\text{hémoglobine circulante en g}}$$

(MILLER, SINGER et DAMESHEK).

Il est normalement de 25 chez l'adulte et peut atteindre des chiffres considérables dans les maladies hémolytiques alors qu'il est abaissé dans les ictères non hémolytiques.

En fait, la valeur de ce test, outre les inconvénients pratiques de sa réalisation, est mise en doute par certains auteurs (DACIE, CROSBY) tenant compte d'observations de maladies hémolytiques authentiques où il était normal.

LA RÉGÉNÉRATION SANGUINE

L'Erythroblastose médullaire. Elle est de règle dans les maladies hémolytiques ; le plus souvent elle est de type normoblastique, atteignant des taux supérieurs à 40 ou 50 %. Elle n'est cependant pas strictement spécifique. Elle peut en effet s'observer en dehors des anémies hémolytiques, et inversement être absente, mais de façon transitoire, jusqu'à atteindre une érythroblastopénie au cours de l'évolution d'une maladie hémolytique authentique.

L'Erythroblastose sanguine est plus rare, pouvant cependant dans quelques cas atteindre des taux importants.

La Réticulocytose est le reflet périphérique de l'hyperplasie érythroblastique de la moelle ; elle dépasse le plus souvent le taux normal (inférieur à 2 %) pour monter jusqu'à 50 ou 70 % parfois.

2° CIRCONSTANCES ÉTIO-PATHOGÉNIQUES BIOLOGIQUES

La survenue de l'hémolyse se constate schématiquement dans deux grandes catégories de circonstances,

- soit que l'hématie soit intrinséquement mal formée, et il s'agit le plus souvent d'un déficit congénital dans son capital enzymatique, ou d'une anomalie congénitale de l'hémoglobine ;
- soit que l'hématie normale soit agressée par un facteur extrinsèque, qu'il soit physique, chimique, bactérien, viral, parasitaire ou immunologique.

C'est de ces circonstances que découlent les tests qui cherchent à mettre en évidence la cause exacte de l'hémolyse.

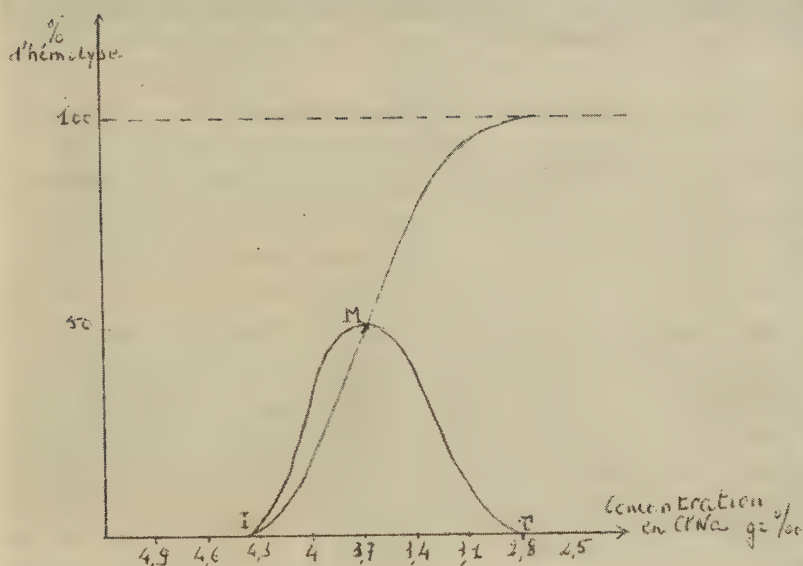
LES RÉSISTANCES GLOBULAIRES

La résistance osmotique, ou résistance aux solutions hypotoniques, fut proposée par CHAUFFARD en 1907, dans le diagnostic de « l'ictère congénital de l'adulte ». Elle consiste à mettre les hématies dans des solutions décroissantes de NaCl et d'observer le pourcentage d'hémolyse dans les différentes solutions.

Si l'on porte le pourcentage d'hémolyse trouvé à chaque concentration en NaCl sur un graphique, on obtient une courbe en « S ». La construction de la dérivée de cette courbe permet d'obtenir directement la courbe de distribution des globules rouges détruits en fonction de la concentration en NaCl.

Cette courbe passe par trois points principaux :

- I, qui correspond à la concentration la plus élevée pour laquelle l'hémolyse commence ;
- T, qui correspond à la concentration la plus élevée pour laquelle l'hémolyse est totale ;
- M, qui correspond à la concentration pour laquelle 50 % des G.R. sont détruits.



La résistance mécanique, proposée par MELTZER, en 1884. Elle a été reprise par SHEN, CASTLE et FLEMMING en 1944. Elle consiste à mesurer le pourcentage d'hémolyse obtenu après agitation mécanique des G.R. dans des conditions bien définies. Elle donne généralement des renseignements analogues à ceux fournis par la résistance osmotique.

La résistance acide, proposée par HAM, modifiée par CROSBY, consiste en un test d'incubation des hématies à 37° en milieu acidifié. Faite dans des conditions précises, elle a un intérêt spécifique considérable.

L'autohémolyse. Si l'on place stérilement à 37° du sang défibriné, il n'y a pas ou peu d'hémolyse spontanée avant 48 heures, et d'autant moins que l'on maintient le taux de glucose. L'étude de l'autohémolyse permet de distinguer les affections où elle survient plus tôt suivant que l'on rajoute ou non du glucose. DACIE, qui l'a étudiée de façon approfondie, a distingué, grâce à ce test, des maladies hémolytiques

différentes suivant que l'adjonction de glucose corrige une autohémolyse exagérée, ne la corrige pas ou exagère une autohémolyse subnormale.

LES DONNÉES CYTOLOGIQUES

L'étude morphologique du G.R. apporte des éléments importants :

L'aspect des hématies sur lame peut avoir une bonne valeur d'orientation,

- soit qu'elles se montrent sous une forme sphérique avec diminution du diamètre et augmentation de l'épaisseur,
- soit qu'elles soient aplaties, plus claires avec une tache centrale, donnant l'aspect de cellule-cible, ou allongées, ovalaires (elliptocytes) ;
- soit qu'elles soient déformées en faux ou en feuilles de houx (sickle-cells) ;
- soit qu'enfin, elles se présentent sous forme de débris érythrocytaires : les schizocytes.

Il faut noter que ces modifications morphologiques ont une valeur d'orientation étiologique, mais qu'aucune d'elles (sauf les sickle-cells) n'est spécifique d'une affection donnée.

LES INCLUSIONS INTRA-ÉRYTHROCYTAIRES

Les corps de Heinz colorés seulement par les colorants vitaux sous forme d'un ou plusieurs gros granules, signent en principe l'action d'un poison méthémoglobinisant. En réalité, on les trouverait dans un certain nombre de maladies hémolytiques (WEBSTER).

Les autres inclusions érythrocytaires, fréquentes après splénectomie, s'individualisent des précédentes par leur caractère unique et plus volumineux, et ne s'accompagnent pas de méthémoglobinémie, ni de sulfhémoglobinémie.

Les sidérocytes sont des globules rouges contenant des granulations colorables en bleu par la réaction au bleu de

Prusse, de forme et de taille variables. Non spécifiques des maladies hémolytiques, ils y sont cependant souvent retrouvés et habituellement à des taux très élevés, surtout après splénectomie.

L'Erythrocytométrie. La courbe de Price-Jones peut montrer une tendance à la microcytose, avec déviation à gauche de la courbe, mais celle-ci est plus étalée avec volontiers un contingent macrocytaire correspondant le plus souvent aux réticulocytes.

ETUDE DE L'HÉMOGLOBINE

Cette étude présente un intérêt considérable, car elle permet parfois, à elle seule, de faire le diagnostic d'anémie hémolytique.

L'étude de la dénaturation alcaline de l'hémoglobine peut parfois mettre en évidence de grandes quantités d'hémoglobine F dont le taux est normalement inférieur à 2 %.

Il faut recourir à l'électrophorèse de l'hémoglobine pour mettre en évidence l'existence d'hémoglobine anormale (S, etc.).

LES DOSAGES ENZYMATIQUES

Si l'on s'en réfère au métabolisme intra-érythrocytaire, on conçoit que la carence en un enzyme nécessaire au bon fonctionnement de ce métabolisme puisse entraîner un vieillissement prématuré de l'hématie, et par suite une destruction plus rapide. Les recherches modernes se sont efforcées de mettre au point le dosage de certains enzymes.

La glucose-6-phosphate-déshydrogénase est l'enzyme le plus couramment dosé. On peut soupçonner cliniquement son déficit devant une hémolyse aiguë, survenant à l'occasion de l'absorption de produits sans toxicité érythrocytaire propre, à petites doses. Elle peut cependant prendre l'aspect d'une maladie hémolytique chronique.

Les autres carences enzymatiques (glutathion-réductase, diphosphoglycéromutase, pyruvate-kinase) sont techniquement plus difficiles à mettre en évidence et leur recherche n'est pas encore entrée dans la pratique courante.

LES DONNÉES IMMUNOLOGIQUES

L'étude immunologique cherche sur les G.R. ou dans le sérum les stigmates d'une agression de l'hématie par des anticorps.

Sur les globules rouges, la mise en évidence d'un revêtement par des anticorps se fait par différentes méthodes :

- a) l'auto-agglutination en milieu albumineux ;
- b) surtout le test de Coombs : ce test proposé en 1945, par COOMBS, MOURANT et RACE, est d'un principe simple : des G.R. revêtus d'anticorps, mis en présence d'un sérum de lapin « antiglobulines humaines », s'agglutinent. Ce test peut se pratiquer à l'aide de deux sérums différents qui permettent de détecter la nature gamma ou non-gamma globulinique du revêtement globulaire.

On constate schématiquement :

- que les tests de Coombs positifs avec un sérum « anti-gamma-globuline » révèlent l'existence sur l'hématie d'auto-anticorps chauds qui sont d'authentiques auto-anticorps ;
- que, par contre, les tests de Coombs positifs avec un sérum « anti-non-gamma-globuline » mettent en évidence l'existence sur le G.R., soit d'anticorps froids détectés par le complément qui est fixé sur eux, soit d'autres protéines de nature plus imprécise sur laquelle nous reviendrons plus tard.

c) Les autres recherches immunologiques s'efforceront de détecter les agresseurs qui échappent au test de Coombs :

— Les agglutinines froides sont mises en évidence de façon simple par l'auto-agglutination à froid. S'il en existe, on pratique leur dosage pour déterminer si leur taux dépasse les limites physiologiques.

— Les hémolysines, de constatation plus rare, sont de deux types :

- soit de type acido-hémolysine monothermique : ces hémolysines se fixent sur le G.R. à 40°, mais sont éluées à 37°. Leur action hémolytique ne peut s'exercer qu'en

présence du complément qui est inactif à 4°. L'action hémolytique faisant agir simultanément hémolysines et complément ne peut donc se situer qu'à une température intermédiaire, suffisante pour activer le complément, insuffisante pour éluer les hémolysines. Cette température est celle du laboratoire (22°). L'hémolyse est plus nette en sérum acidifié ;

- soit de type hémolysine diphasique : ces hémolysines se fixent à 4°, mais ne sont pas éluées à 37° lors de l'activation du complément. Ce sont les hémolysines de DONATH et LANDSTEINER.

Dans le sérum, on recherche l'existence d'anticorps libres :

- soit par le test de Coombs indirect, qui cherche à fixer sur des iso-globules rouges les anticorps susceptibles de se trouver dans le sérum à examiner et à mettre en évidence cette fixation par un test au sérum anti-globuline ;
- soit par la recherche d'anticorps sériques vis-à-vis d'hématies traitées par les enzymes (trypsine ou papaïne). Employée dès 1937 par MORTON et PICKLES, cette méthode est très sensible, parfois même plus que le Coombs lui-même et permet de titrer les anticorps trouvés.

3° ETUDE DE LA DURÉE DE VIE DES GLOBULES ROUGES

Cette étude présente un intérêt considérable, car, finalement c'est le seul moyen d'obtenir une certitude sur l'existence ou non d'une hémolyse pathologique : le principe en est simple puisqu'il consiste à injecter à un sujet des globules rouges que l'on peut repérer par la suite dans son sang et dont on peut ainsi mesurer le rythme de disparition.

a) La première méthode est celle d'ASHBY : elle consiste à injecter au sujet à examiner des G.R. différents des siens par un ou plusieurs antigènes, sans qu'il y ait d'incompatibilité transfusionnelle, de façon à pouvoir les numérer ensuite par la méthode de l'agglutination différentielle à des intervalles

de temps réguliers. De cette façon, les chiffres trouvés à chaque numération s'inscrivent chez le sujet normal sur une droite si on les porte sur un graphique indiquant en ordonnée le pourcentage de survie et en abscisse le temps. Ceci est valable en dehors de toute hémorragie.

Si les G.R. sont injectés à un malade suspect d'hémolyse :

- ou bien la survie est normale et cela signifie qu'il n'y a pas d'agression érythrocytaire (anémie hémolytique constitutionnelle) ;
- ou bien la courbe de survie est raccourcie et prend un aspect exponentiel et cela signifie qu'il y a une agression des globules rouges injectés (anémie hémolytique secondaire).

En fait, ce test a des limites, car il ne tient pas compte du comportement des G.R. du malade dans sa propre circulation, il nécessite une compatibilité donneur-receveur qui n'est pas toujours facile à trouver et, enfin, il impose la transfusion de quantités relativement importantes de sang.

b) La mesure de la survie des G.R. marqués par les isotopes échappe à ces reproches. Si l'azote radio-actif, administré *per os*, ne présente pas de garanties d'absorption régulière suffisantes, si le fer radio-actif présente l'inconvénient d'être réutilisé après destruction du G.R. dans lequel il était incorporé, le chrome radio-actif ne présente pas ces inconvénients.

Après marquage des hématies du sujet à examiner par du chromate de soude radio-actif, on réinjecte ces hématies et on mesure au bout d'intervalles de temps déterminés la radio-activité résiduelle du sang circulant en tenant compte de la période du chrome 51. Les résultats chez le sujet normal ne s'inscrivent pas sur une droite, mais sur une courbe exponentielle, en raison de l'élution d'une partie du chrome.

Cette méthode, outre qu'elle n'a pas les inconvénients de la méthode d'ASHBY, présente l'intérêt de permettre la localisation des lieux de destruction globulaire maximum.

CHAPITRE II

LES TESTS PRATIQUÉS

Il est bien évident qu'on ne peut pratiquer systématiquement tous les tests que nous avons énumérés en raison du nombre d'examens demandés et du but de dépistage que ces derniers se proposent. C'est pourquoi il nous a fallu choisir des tests de routine dont la sélection a obéi à une triple préoccupation :

- ne pas laisser échapper des maladies hémolytiques, même frustes, et donc couvrir un éventail étiologique assez large ;
- utiliser des tests simples, aisément praticables et bien standardisés pour obtenir des résultats homogènes ;
- employer des techniques applicables dans les conditions routinières de prélèvement : tous les tests sont pratiqués sur deux échantillons de sang, l'un de 10 ml de sang coagulé, l'autre de 15 ml de sang hépariné. Ces échantillons ne sont pas pris dans des conditions d'asepsie suffisante pour qu'on puisse les considérer comme stériles.

Bien entendu, ces tests de routine sont complétés par des recherches plus poussées lorsqu'ils révèlent une anomalie.

Nous nous proposons donc dans ce chapitre d'exposer les tests que nous avons pratiqués de façon systématique, les raisons de leur choix, la technique utilisée et les résultats qu'ils nous ont donnés chez des sujets normaux,

LES TESTS GLOBAUX

L'HÉMOGLOBINE PLASMATIQUE.

La présence d'hémoglobine dans le plasma est déjà décelée à l'œil nu lorsque son taux dépasse 20 mgr/100 ml. Nous

n'avons pratiqué le dosage précis de l'hémoglobine que lorsque la teinte du plasma nous y a incité.

Toutes les méthodes courantes de dosage sont basées sur une réaction des peroxydases, c'est-à-dire l'apparition d'une coloration rouge inhibée par l'eau oxygénée, mais réapparaissant quand on introduit un corps ayant une réaction peroxydasique, c'est-à-dire réductrice de l'eau oxygénée. L'action peroxydasique de l'hémoglobine peut être mise en évidence avec la benzidine, mais nous sommes resté fidèle à pyridine-résorcine-pyramidon (PRP).

Le dosage s'effectue sur le plasma. Les conditions de prélèvement sont très importantes pour éviter l'apparition, par agitation mécanique, d'hémoglobine libre.

Technique.

Réactifs. PRP : pyridine, 9 ml,
résorcine, 1 g,
pyramidon, 5 g,
alcool à 95°, q.s.q. 100 ml.

Réactif acéto-alcoolique :
acide acétique, 8 ml,
alcool à 95°, q.s.p. 100 ml.

H₂O₂ 0,6 %, préparée juste avant l'emploi par dilution au 1/5 d'H₂O₂ à 3 %, titrée et conservée à +4° pendant moins d'un mois.

Réaction.

Etiqueter 3 tubes à essai : B1 (blanc n° 1): témoin louche du plasma.

B2 (blanc n° 2) : témoin activité peroxydasique des réactifs.

R (réaction).

Mettre dans ces tubes :

	H ₂ O distillée	Plasma	PRP	Réactif acéto-alcool	H ₂ O ₂ 0,6 %
B1	1 ml	0,2 ml	2 ml	1,5 ml	—
B2	0,2 ml	—	2 ml	1,5 ml	1 ml
R	—	0,2 ml	2 ml	1,5 ml	1 ml

Agiter les 3 tubes par inversion. Attendre 45 minutes.

Ajouter 10 ml d'eau distillée dans chaque tube.

Filtrer le contenu de chaque tube 2 fois sur le même filtre.

Photométrer chaque tube (photomètre de Meunier - Cuve Segala - Ecran 550 mμ), après avoir fait le zéro sur la cuve remplie d'eau distillée.

Calculer R — (B1 + B2) et lire sur la courbe le taux d'hémoglobine correspondant au chiffre obtenu.

En pratique, si le plasma examiné a une couleur rouge nettement perçue à l'œil, le diluer avant le dosage pour obtenir une couleur juste perceptible à l'œil, c'est-à-dire un taux de 20 à 30 mg/100 ml de plasma qui est celui que doit avoir la prise d'essai.

Etalonnage.

Préparer les solutions d'hémoglobine suivantes à partir d'une solution-mère obtenue en mettant 2 ml d'un sang dont on a titré l'hémoglobine par ferrimétrie (15 g % environ) dans un litre d'eau distillée. Calculer le titre de chaque solution à partir du taux d'hémoglobine du sang.

Solution-mère	Seule	9	8	7	6	5	4	3	2	1	1	1
Eau distillée	—	1	2	3	4	5	6	7	8	9	19	49

Causes d'erreur.

L'existence d'un louche donné par le plasma peut gêner la réaction colorimétrique d'où la nécessité d'un témoin utilisant tous les réactifs à l'exception de l'eau oxygénée (H₂O₂) qu'on remplace par de l'eau distillée.

La réaction peut être faussée par une activité peroxydasique parasite apportée par des impuretés dans les réactifs, d'où la nécessité d'un témoin reproduisant la réaction, mais sans plasma.

LA BILIRUBINE LIBRE

Malgré son manque de spécificité, nous avons choisi comme test global d'hémolyse la bilirubinémie libre parce que c'est un examen simple et qui apporte quand même une présomption en faveur d'une hémolyse.

Parmi toutes les techniques utilisées pour le dosage de la bilirubine (diazoréaction, extraction par les solvants organiques, spectrophotométrie, séparation chromatographique, dosage de la bilirubine libre par oxydation de la bilirubine conjuguée par un mélange à base d'acide nitreux de Monnet), nous avons choisi la diazoréaction (formation d'un dérivé diazoté de couleur rouge) qui est rapide, précise quand on utilise un photomètre, juste quand l'étalonnage a été fait avec les solutions de bilirubine en sérum humain (milieu physiologique) et que toutes les précautions sont prises pour éviter toute oxydation du pigment lors de la réalisation des solutions.

Technique.

Réactifs :

- Nitrite de soude 1 % : 1 g/100 ml d'eau distillée, à diluer au moment de l'emploi pour obtenir une solution à 0,5 %.
- Solution A : 1 g d'acide sulfanilique dans un peu d'eau contenant 15 ml d'HCl concentré, ramené à 1 l dans l'eau distillée.
- Diazo-réactif : mélanger avant l'emploi 0,06 ml de nitrite de soude à 0,5 % avec 2 ml de solution A.
- BSU : dissoudre 75 g de benzoate de soude dans 180 ml environ d'eau distillée. Ajouter 45 g d'urée. Dissoudre par agitation. Amener à 300 ml par eau distillée. Filtrer.

Réaction :

- Microméthode.

Cuve Blank	Cuve X
0,1 ml sérum à titrer	0,1 ml sérum à titrer
0,2 ml sol. A	0,2 ml diazo- réactif
0,7 ml eau saline	0,7 ml eau saline
1 ml de BSU	1 ml de BSU

Dans ce premier temps, l'apparition d'un virage au rose indique la présence de bilirubine directe. Pour la doser, remplacer ci-dessous le BSU par eau saline et photométrer au bout d'une minute.

Photométrer (photomètre Meunier - cuve Louga - Ecran 550 m μ). Après avoir fait le zéro avec la cuve blank.

Cette méthode est utilisée pour doser la bilirubine jusqu'à 30 mg/100 ml. Au-dessus, diluer au 1/2 le sérum préparé.

Macrométhode.

Mettre 0,8 ml de sérum dans chacune des cuves à la place de 0,1 ml de sérum et de 0,7 ml d'eau saline. On divisera par 8 le résultat lu sur la courbe. On utilise cette méthode pour titrer les bilirubinémies jusqu'à 3,5 mg pour 100 ml. Au-delà, diluer au départ le sérum au 1/2, au 1/4, etc.

Etalonnage.

Dans 21 ml de sérum humain, faire tomber goutte à goutte 2 ml de HCl 0,1 N, puis 2 ml de NaOH 0,1 N. Vérifier l'absence de modifications notables du pH au papier indicateur : « sérum-témoin ».

Dans un pèse-filtre, peser en présence d'un déshydratant 50 mg de bilirubine Hoffmann-Laroche. Ajouter 10 ml de NaOH 0,1 N. Agiter longuement pour une dissolution et une homogénéisation parfaite.

A 21 ml de sérum, ajouter successivement 2 ml de HCl 0,1 N, puis 2 ml de la solution sodique de bilirubine précédente : « sérum-étalon » à 40 mg de bilirubine pour 100 ml.

Préparer une série de dilutions en mélangeant :

Taux mg %	0	4	8	16	20	24	28	40
Sérum témoin (ml)	seul	4,5	2	1,5	1	1	1,5	—
Sérum étalon (ml)	—	0,5	0,5	1	1	1,5	3,5	seul

Appliquer à chaque dilution la technique de dosage. Retrancher le premier des chiffres des suivants pour que la courbe passe par zéro. Ne pas utiliser le dernier chiffre (loi de Bear).

LES RÉTICULOCYTES.

De toutes les méthodes proposées (coloration vitale sur frottis au bleu crésyl brillant ou au bleu de Unna, numération directe dans la solution de KRISTENSEN, ou en contraste de phase dans la solution de chlorhydrate de cocaïne), nous avons adopté une technique de numération directe en cellule,

en contraste de phase dans la solution de sulfo-cyanure de potassium selon une technique dérivée de celle de Bjorkman.

Technique.

Réactifs :

- Sulfocyanure de potassium, 0,30 g.
- SO_4H_2 0,05 N : 100 ml.

Technique :

- Le sang hépariné, très soigneusement agité, est dilué avec la solution précédente au 1/60 dans un mélangeur de Potain. On remplit une cellule de Malassez qu'on laisse au moins une demi-heure au repos en chambre humide. L'examen est fait au contraste de phase : on compte une rangée horizontale (10 grands carrés), on multiplie par 1000 le chiffre trouvé pour avoir le nombre au millimètre-cube.

LES TESTS A VISÉE ÉTIOLOGIQUE

LA RÉSISTANCE OSMOTIQUE.

Pour des raisons de simplification, nous n'établissons pas la courbe d'hémolyse en fonction de l'hypotonie du milieu, mais nous nous contentons des trois points qui déterminent l'hémolyse initiale (H.I.), l'hémolyse terminale (H.T.) et l'hémolyse 50 % ou moyenne (H.M.).

Nous ne pratiquons pas la mesure de la résistance osmotique après incubation des hématies, en raison du fait que les prélèvements ne sont pas strictement stériles et que d'autre part cette méthode est longue. Nous opérons avec des solutions de chlorure de sodium en eau distillée neutre et non en eau tamponnée, car elles donnent des résultats superposables. Les autres modifications techniques que nous avons essayées ne nous ont pas paru convaincantes.

Technique.

Elle est très simplifiée.

Réactifs :

On part d'une solution mère de chlorure de sodium à 7 ‰ titrée dans l'eau distillée neutre, et on prépare les solutions suivantes par

mélange de la solution mère et d'eau distillée neutre. Si x est la concentration de chlorure de sodium à obtenir, la quantité d'eau distillée neutre (Q) à ajouter à 100 ml de solution mère est donnée par la

$$\text{formule : } Q = \frac{100 (7-x)}{x}$$

Les solutions s'étagent de 7 ‰ à 0,4 ‰, avec une différence entre chaque de 0,3 ‰.

Technique :

Mettre 1 ml des différentes solutions de chlorure de sodium dans une galerie de 23 tubes à l'aide d'un rhéomètre, la distribution se faisant à partir des solutions les moins concentrées.

Ajouter à chaque tube une petite goutte des hématies à tester à 50 % dans leur propre plasma hépariné.

Ajouter dans un 24^e tube la même petite goutte de sang à tester à 1 ml d'une solution de NH_4OH à 0,04 %.

Bien agiter, puis laisser reposer 2 heures.

H.I. est donnée par la concentration de chlorure de sodium du premier tube dans lequel le surnageant est teinté d'hémoglobine.

H.M. est déterminée de la façon suivante : on ajoute 1 ml d'eau distillée au 24^e tube, on agite et on cherche dans la galerie le tube dont le surnageant est de la même teinte.

H.T. est lue après agitation de tous les tubes de la galerie : c'est la plus forte concentration en chlorure de sodium pour laquelle aucun louche n'est visible.

LA RÉSISTANCE MÉCANIQUE

Différentes méthodes ont été proposées variant avec les procédés d'agitation et la présentation des hématies (sang défibriné, sang complet hépariné, ou G.R. lavés).

Nous avons choisi d'étudier la résistance mécanique parce qu'il nous semble qu'elle apporte non seulement un recoupement habituel des renseignements donnés par la résistance osmotique, mais qu'en plus elle a son intérêt propre au cours des maladies hémolytiques congénitales frustes.

Technique.

Nous pratiquons une méthode dérivée de celle de Schubott et Po-Tun-Fok, mais en utilisant :

- un agitateur type agitateur de Kline, décrivant un mouvement circulaire dans un plan horizontal à la cadence de 110 mouvements à la minute ;
- des billes d'acier inoxydable de 5 mm de diamètre à la place des billes de quartz ou des billes de verre qui, elles, se détériorent.

Centrifuger très soigneusement 15 minutes à pleine vitesse l'échantillon hépariné du sang à tester pour obtenir un surnageant parfaitement libre de G.R.

Préparer 3 tubes à essai :

H₀ contenant 4,75 ml de NH₄OH à 0,04 %,

H₁₀₀ contenant 19,9 ml de NH₄OH à 0,04 %,

H contenant 4,75 ml de NH₄OH à 0,04 %.

Dans un erlenmeyer contenant 15 billes d'acier inoxydable, mettre 1,2 ml de plasma.

Porter également 0,25 ml de ce plasma dans le tube H₀.

Dans le tube ayant servi à la centrifugation du sang à examiner, enlever tout surnageant au-dessus du culot globulaire.

Prendre 0,8 ml de ce culot qu'on porte dans l'erlenmeyer : ce dernier est agité 30 minutes sur l'agitateur mécanique.

Après cette agitation, l'hémolyse 100 % est déterminée sur le sang agité en portant 0,1 ml dans le tube H₁₀₀.

Centrifuger par ailleurs le reste du sang agité très soigneusement pour obtenir un tassement complet des hématies.

Porter 0,25 ml du plasma surnageant dans le tube H. Colorimétriser (photomètre Meunier - Cuve Rufisque - Ecran 550 mμ), les tubes H₀, H₁₀₀ et H, le zéro étant fait sur une cuve remplie d'eau distillée.

Le pourcentage d'hémolyse est donné par la formule :

$$\frac{(H-H_0) \times 100}{10 H_{100}-H_0}$$

LA RÉSISTANCE ACIDE

Entrevue par VAN DEN BERG, mise au point par HAM sur sérum acidifié, son étude a été complétée par CROSBY qui rajoute au test de HAM de la thrombine.

Sa spécificité postulée comme absolue de la maladie de Marchiafava-Micheli nous l'a fait pratiquer systématiquement malgré la relative rareté de cette affection.

Technique.

Nous pratiquons un test dérivé de celui de Crosby :

- à 9 gouttes d'un sérum de groupe AB, congelé frais et décongelé au moment de l'emploi (c'est-à-dire possédant son complément), on rajoute successivement :
- une goutte de HCl N/5, quelques flocons de thrombine équine (Thrombase Roche) et une goutte de suspension à 50 % en eau saline des G.R. lavés à examiner. Le tube est bouché et laissé une heure à l'étuve à 37°.

La lecture se fait en principe après agitation suivie de centrifugation.

En cas de réaction positive (coloration rouge du surnageant) le test est refait avec 2 témoins : 1^{er} témoin avec sérum décomplémenté ; 2^e témoin avec G.R. témoins normaux.

LE TEST DE COOMBS DIRECT

Ce test de Coombs direct a été pratiqué sur lame avec deux sérums antiglobulines :

- 1 sérum anti-gamma-globulines essentiellement ; il s'agit d'un sérum dilué et standardisé pour la détection optima des anticorps antirhésus (évitant en particulier les phénomènes de zone) ;
- 1 sérum antiglobulines « large spectre », non ou peu dilué, susceptible de détecter, outre les gamma-globulines, les revêtements non-gamma-globuliniques.

Technique :

Laver les G.R. à tester, 3 fois dans une grande quantité d'eau saline.

Les mettre en suspension saline à 40 %.

Mélanger sur lame une goutte de cette suspension et une goutte de sérum antiglobulines (d'une part dilué, anti-gamma, d'autre part large spectre).

En cas de réaction positive avec ce dernier ou avec les 2 sérums on prépare des mélanges au 1/2 du sérum large spectre, d'une part dans de l'eau saline, d'autre part dans une solution de gamma-globulines humaines (obtenue de la façon suivante : on dilue au 1/16 la solution à 16,5 % de gamma-globulines sériques standards. On porte une goutte de cette dilution dans 1 ml d'eau saline. Ces manipulations sont faites avec une pipette réservée à cet usage et différente de celle utilisée pour les sérums antiglobulines).

Après 5 minutes à la température du laboratoire, les 2 mélanges sont mis en contact sur lame avec la suspension des globules à tester. Si la réaction est positive avec le mélange en eau saline, mais négative avec le sérum absorbé sur les gamma-globulines, le revêtement globulaire est dit de nature gamma-globulinique. Si, au contraire, la positivité est inchangée avec le sérum absorbé, le revêtement est dit de nature non-gamma-globulinique.

N. B. — Toutes les fois qu'un revêtement de nature gamma-globulinique est décelé sur les hématies, une auto-agglutination est recherchée sur lame chaude et dans les conditions de la détermination du groupe rhésus. Le groupe rhésus est vérifié à l'aide d'un antisérum anti-Rh complet utilisé dilué en tube en milieu salin.

Toutes les fois qu'est décelé un revêtement de nature non-gamma-globulinique, c'est à froid qu'est recherchée l'auto-agglutination après le séjour d'une nuit à 4° de l'échantillon coagulé du sang à examiner.

RECHERCHE D'ANTICORPS SÉRIQUES VIS-A-VIS D'HÉMATIES TRYPSINISÉES

Cette recherche, qui dans le cas des anémies hémolytiques à auto-anticorps chauds, vise à détecter la présence d'auto-anticorps libres sériques susceptibles d'entraîner, sinon des accidents transfusionnels, du moins la diminution de la survie des G.R. transfusés, a été en fait systématiquement pratiquée à la recherche d'iso-anticorps chez ces malades anémiques souvent polytransfusés.

Technique :

Une solution stock, acide, de trypsine à 10 % et une solution tampon au phosphate M/10 de pH 7,7 sont mélangées à raison de 9 gouttes de solution tampon pour une goutte de solution de trypsine.

2 gouttes de purée d'hématies $R_1 R_2$ lavées sont ajoutées et incubées dans le mélange précédent pendant une heure à 37°. Les hématies sont alors lavées 2 fois et remises en suspension saline.

Tandis que cette suspension est laissée à 37°, 4 dilutions géométriques du sérum à examiner sont réalisées sous le volume d'une goutte dans 4 petits tubes qui reçoivent chacun une goutte de la suspension d'hématies trypsinisées.

La lecture est macroscopique après incubation de 1 h 30 à 37°.

Dans le cas d'une positivité, le test est refait vis à vis des mêmes hématies Rh +, mais aussi Rh —, et des propres hématies du sujet dans le but de préciser s'il s'agit :

- soit d'un « pan-anticorps » au cours d'une anémie hémolytique auto-immune ;
- soit d'un « iso-anticorps », non-actif sur les globules du sujet (et dont les recherches ultérieures pourront préciser la spécificité) ;
- soit d'un « anticorps » vis-à-vis des G.R. modifiés par le traitement enzymatique. Nous avons pu constater cette anomalie vis-à-vis : soit des hématies trypsinisées, soit des hématies papaïnées, soit de ces deux types d'hématies, soit même encore de toutes les hématies conservées, chez des sujet sains.

L'AUTO-AGGLUTINATION A FROID

L'échantillon de sang coagulé est mis systématiquement à 4° pendant une nuit et observé le lendemain de l'examen. Toutes les fois qu'une auto-agglutination est constatée, les auto-anticorps froids sont titrés sur l'échantillon de sang coagulé après réchauffement à 37°. On sépare alors le sérum des globules par centrifugation à cette température. Le titrage est effectué vis-à-vis d'auto et iso-globules de groupe O.

Eventuellement, au cas où les agglutinines froides sont trouvées à un taux pathologique (supérieur à 1/32) une recherche des acido-hémolysines à 22° complète l'examen. De la même façon, lorsque cette recherche a pu être demandée en fonction du tableau clinique, nous cherchons à mettre en évidence l'hémolysine biphasique de DONATH et LANDSTEINER.

RECHERCHE DE L'HÉMOGLOBINE F

Tous les tests précédents pouvant être négatifs ou très peu évocateurs dans le cas de thalassémie, même majeure, nous avons pratiqué de façon à peu près systématique le dosage de l'hémoglobine alcalino-résistante.

La technique utilisée est une simplification de la détermination selon SINGER, de la *One Minute Denaturation Value*.

Technique :

Réactifs :

NaOH N/12 exactement titrée (pH 12,7), conservée au réfrigérateur en flacon bouché sous paraffine.

Solution précipitante acide : solution à 50 % de $\text{SO}_4(\text{NH}_4)^2$, 800 ml et HCl 10 N, 2 ml.

Technique. — Au début du test, mesurer 2,4 ml de NaOH dans un tube qui est bouché et laissé à la température du laboratoire jusqu'à son utilisation.

Laver 3 fois en eau saline 1 ml environ de culot globulaire du sang à tester.

Dans un tube à hémolyse, porter 0,5 ml de G.R. lavés, 0,7 ml d'eau distillée, puis, après agitation, 0,2 ml de toluène.

Agiter vigoureusement pendant 5 minutes sur un agitateur mécanique (agitateur type Kahn), les tubes étant bouchés et en position horizontale.

Centrifuger à 4 000 t/mn pendant 10 minutes.

Pipeter la solution d'hémoglobine au fond du tube en évitant très soigneusement d'aspirer les couches surnageantes traversées par la pipette.

Vérifier que le taux d'hémoglobine de la solution obtenue est de 10 g % $\pm$ 1. Au besoin, si le taux dépasse 11 g, ajuster par addition d'une goutte d'eau distillée et nouveau contrôle.

Dans le tube contenant 2,4 ml de NaOH, ajouter 0,15 ml de la solution d'hémoglobine en déclenchant un chronomètre au moment de l'addition. Rincer 6 fois la pipette dans la soude et continuer à agiter pendant 10 secondes.

Après exactement une minute, ajouter 5,1 ml de la solution précipitante acide. Retourner le tube 6 fois, puis filtrer sur filtre rond, sans cendres, à filtration lente. Filtrer une seconde fois sur le même filtre.

En l'absence d'hémoglobine alcalino-résistante (taux inférieur à 2 %), le filtrat est incolore. Dans le cas contraire, la quantité d'hémoglobine ayant résisté à la dénaturation alcaline est mesurée de la façon suivante :

- un témoin 100 % est réalisé en mélangeant 15 ml d'eau distillée (vérifier que le pH est très voisin du mélange soude + acide réalisé ci-dessus) et 0,15 ml de la solution d'hémoglobine ;
- les mesures sont faites à l'électrophotomètre de Meunier (cuve Rufisque - Ecran 550 m μ), le zéro de l'appareil est fait sur une cuve remplie d'eau distillée, tandis que les mesures successives du filtrat (x) et du témoin 100 % (y) sont effectuées dans une deuxième cuve vérifiée comme optiquement identique à la première.

Le pourcentage de l'hémoglobine alcalino-résistante est donné par la formule

$$\frac{x \times 100}{y \times 2}$$

RÉSULTATS DE CES TECHNIQUES CHEZ DES SUJETS NORMAUX

Nous avons choisi, pour donner les limites normales de nos tests, un échantillon de 30 individus *a priori* normaux. Cet échantillon est représenté par 30 donneurs de sang des deux sexes dont l'âge se situe entre 20 et 50 ans.

Pour notre calcul statistique, nous avons préféré l'expression logarithmique parce que la distribution des valeurs que nous avons trouvées chez ces témoins correspondait, soit à une distribution de Gauss normale, soit à une distribution logarithmique normale et que l'expression logarithmique permet de rendre compte de ces deux sortes de distribution.

LA RÉSISTANCE OSMOTIQUE

Nous avons ainsi étudié la distribution des différentes valeurs de la résistance osmotique initiale (ROI), de la résistance osmotique moyenne (ROM) et de la résistance osmotique terminale (ROT).

RÉSISTANCE OSMOTIQUE INITIALE

Etude analytique.

a) Les écarts de variation expérimentaux se situent pour cette valeur pour des concentrations de chlorure de sodium en gr/1 000 entre 4 et 4,9 en notant déjà qu'il n'y a qu'une valeur à 4,9 et deux à 4.

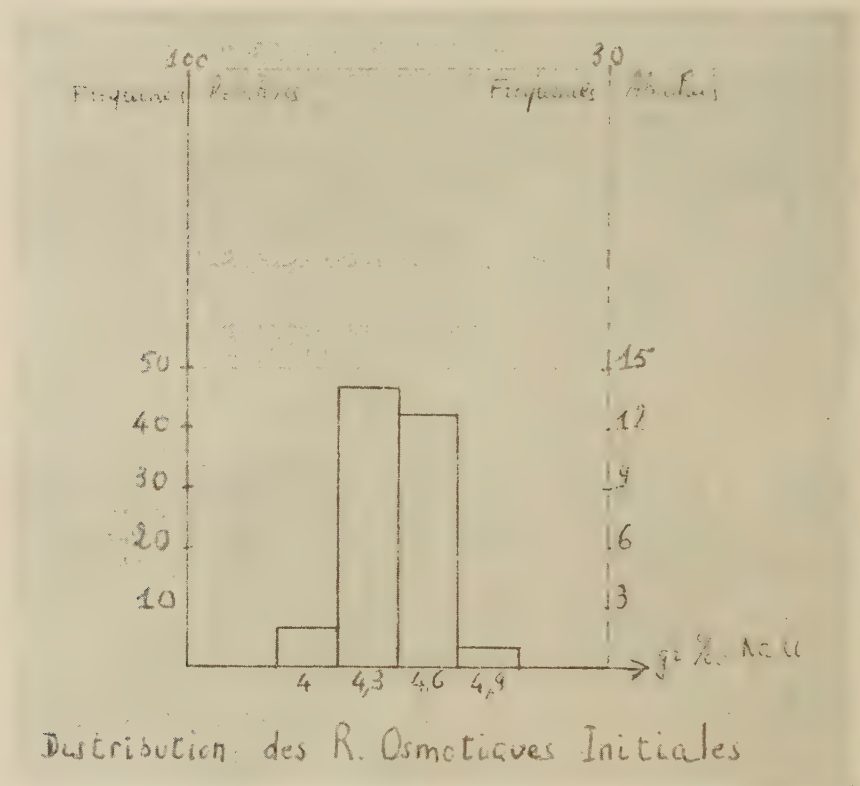
b) La tendance centrale de la distribution est donnée par la mesure de la médiane (c'est-à-dire la valeur de la variable telle que la moitié des observations soit située au-dessous et l'autre moitié au-dessus d'elle), qui a été trouvée à 4,3

et par le calcul de la moyenne arithmétique de toutes les valeurs observées, celle-ci est à 4,43.

La moyenne étant différente de la médiane, il s'agit d'une distribution logarithmique

Etude statistique.

a) Histogramme.



b) Nous étudierons successivement maintenant :

— la moyenne groupée ($\bar{X}$), obtenue en attribuant à chaque intervalle de classe la valeur moyenne de cet intervalle, les erreurs par excès ou par défaut devant à peu de chose près s'annuler.

Or, dans une distribution logarithmique, telle que nous l'avons trouvée ici, ce n'est pas la variable elle-même qui est distribuée de façon normale, mais le logarithme de cette variable.

Dans le cas de la ROI, nous avons trouvé une moyenne groupée qui correspond à $\log. \bar{X} = 0,6455$, soit une moyenne groupée $\bar{X} = 4,41$.

Calculant la variance de la distribution, et à partir d'elle, l'écart-type ou déviation standard, nous avons trouvé le chiffre de $s = 0,145$ ($s \log \bar{X} = 0,0196$).

C'est-à-dire qu'à partir de la moyenne groupée et compte tenu qu'il s'agit d'une distribution logarithmique, la variation des valeurs se situe autour de la valeur moyenne comme suit :

$$4,22 < 4,41 < 4,62$$

Cependant, comme il s'agit de Biologie, on admet que l'écart-type, s doit être affecté d'un coefficient de 2 pour obtenir un coefficient de sécurité de 0,95 ; ceci permet de fixer des limites larges, hors desquelles toute valeur trouvée a 95 chances sur 100 d'être pathologique et à l'intérieur desquelles toute valeur trouvée a 95 chances sur 100 d'être normale. Affectant ainsi notre s du coefficient 2, nous avons déterminé l'intervalle de confiance qui, pour la ROI, est :

$$\boxed{4,04 < 4,41 < 4,84}$$

RÉSISTANCE OSMOTIQUE MOYENNE

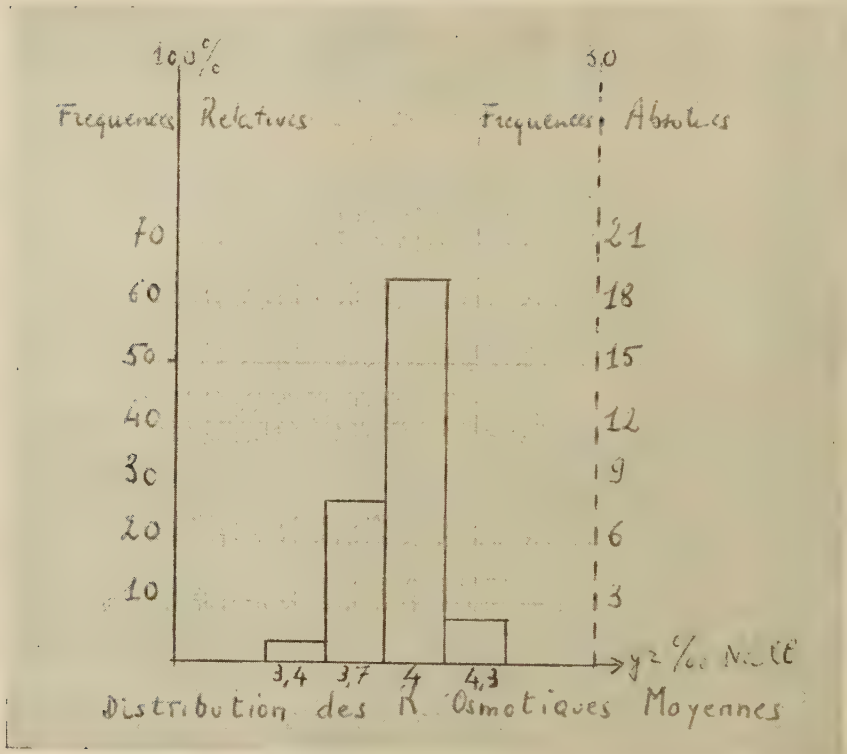
Procédant comme pour la ROI, nous avons trouvé les chiffres suivants :

Etude analytique :

- les écarts de variation expérimentaux se situent entre 3,4 et 4,3 ;
- la tendance centrale de la distribution a été déterminée
 - par la médiane : 4,
 - par la moyenne arithmétique : 3,92.

Etude statistique :

a) Histogramme.



b) La moyenne groupée, telle que nous l'avons définie plus haut, a été calculée et trouvée : $\bar{X} = 3,91$.

- l'écart-type a été calculé comme étant égal à $s = 0,145$,
- comme il s'agit encore d'une distribution logarithmique l'écart-type se chiffre comme suit :

$$3,74 < 3,91 < 4,08$$

- l'intervalle de confiance, pour un coefficient de sécurité de 0,95 se trouve être

$$3,58 < 3,91 < 4,27$$

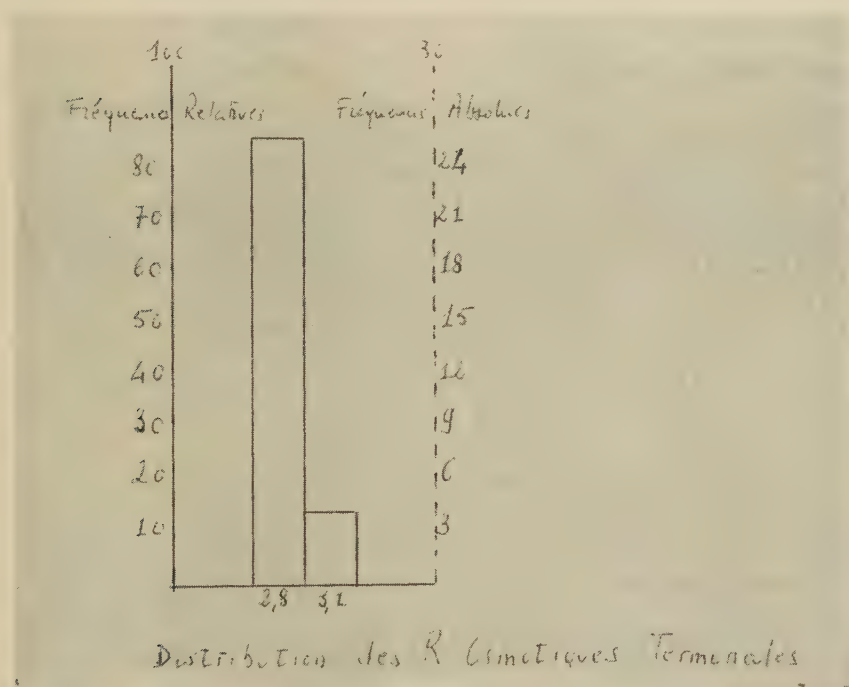
RÉSISTANCE OSMOTIQUE TERMINALE

Etude analytique :

- les écarts de variation expérimentaux sont situés entre 2,8 et 3,1 ;
- la tendance centrale de distribution est définie :
 - par la médiane : 2,8,
 - par la moyenne arithmétique : 2,84.

Etude statistique :

a) Histogramme.



b) La moyenne groupée a été calculée comme étant $\bar{X} = 2,84$, soit égale à la moyenne arithmétique, l'écart-type a été trouvé $s = 0,141$, c'est-à-dire :

$$2,74 < 2,84 < 2,94$$

L'intervalle de confiance pour un coefficient de sécurité de 0,95 se trouve être :

$$2,65 < 2,84 < 3,05$$

LA RÉSISTANCE MÉCANIQUE

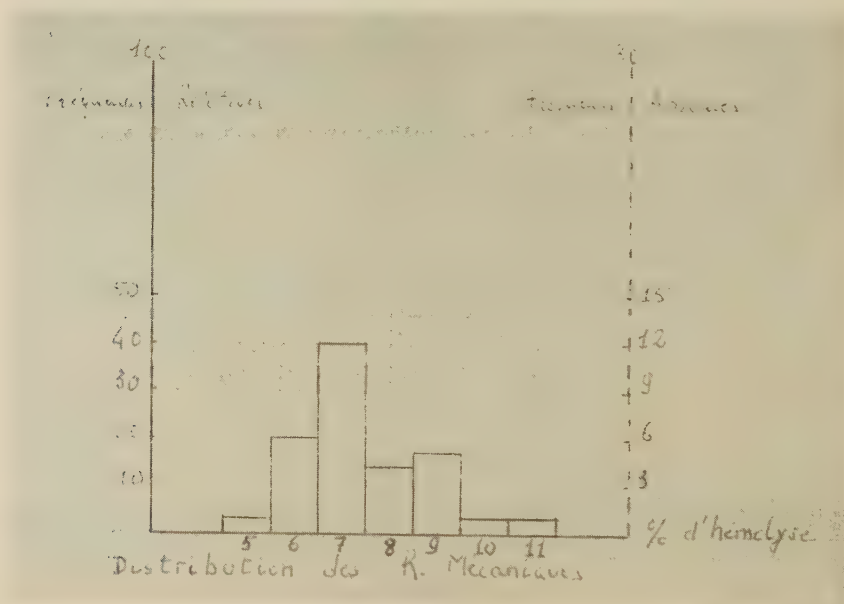
Etude analytique :

Les écarts de variation expérimentaux se situent entre 5 et 11 % d'hémolyse.

La tendance centrale de la distribution est définie par la médiane = 7 et par la moyenne arithmétique, 7,43.

Etude statistique.

a) Histogramme.



b) La moyenne groupée a été calculée comme étant égale à $\bar{X} = 7,32$, le calcul de l'écart-type nous a conduit à une déviation standard :

$$6,05 < 7,32 < 8,84$$

L'intervalle de confiance, pour un coefficient de sécurité de 0,95 :

$$5,05 < 7,32 < 10,7$$

HÉMOGLOBINE F

Nous avons trouvé 30 fois un taux inférieur à 2 %.

LA BILIRUBINE

Les résultats ont été exprimés de la façon suivante : pour les valeurs inférieures à 1 mgr pour 100 ml, nous n'avons pas effectué de dosage précis et avons considéré la bilirubinémie comme non augmentée. Ce n'est que pour les taux égaux ou supérieurs à 1 mgr que nous avons effectué le dosage.

Dans l'étude de nos 30 témoins, nous avons trouvé 28 fois la bilirubine inférieure à un taux de 1 mgr pour 100 ml ; 1 fois son taux était à 1 mgr pour 100 ml ; 1 fois son taux était à 1,2 mgr pour 100 ml.

Compte tenu de l'hétérogénéité relative de notre échantillon témoin, nous considérons que ce dernier taux a une signification pathologique, et dans la suite de cette étude nous considérerons comme pathologiques tous les taux supérieurs à 1 mgr.

LA RÉTICULOCYTOSE

La numération des réticulocytes a été pratiquée chez nos 30 témoins, mais nous n'en avons pas fait l'étude statistique, en raison de très larges variations trouvées dans cet échantillon et de la rareté de la pratique de cet examen dans la population pathologique que nous avons étudiée. La recherche systématique du taux de réticulocytes au laboratoire d'immunohématologie n'est pratiquée que depuis peu de temps.

Nous nous limiterons donc à fixer les écarts de variation expérimentaux, le chiffre le plus bas ayant été trouvé à 2 000, le chiffre le plus élevé à 56 000 réticulocytes par mm³.

LES AUTRES TESTS

La résistance acide, le test de Coombs direct, la recherche de l'auto-agglutination à froid, la recherche d'anticorps par le test aux hématies trypsinisées ont été constamment négatifs.

CHAPITRE III

ÉTUDE ANALYTIQUE DES TESTS PRATIQUÉS DANS LA POPULATION ÉTUDIÉE

La constatation au laboratoire d'une anomalie biologique d'un test quelconque doit conduire l'opérateur ou l'interprète des résultats, sinon à une conclusion, du moins à une orientation diagnostique ou étiologique.

C'est pourquoi nous nous proposons dans ce chapitre de chercher dans quelle mesure les résultats que nous avons trouvés ont une valeur d'orientation. C'est-à-dire que pour chaque valeur normale ou pathologique de chaque test nous chercherons dans quel groupe pathologique ces valeurs se rencontrent.

Il nous a fallu, en effet, répartir nos 1 000 malades dans de grandes classes pathologiques que nous avons simplifiées au maximum. Ces groupes pathologiques ont été choisis en fonction de la fréquence des maladies qu'ils renferment et au cours desquelles des tests d'hémolyse sont volontiers demandés. Ils sont au nombre de 7 :

Les cardiopathies (104 cas). Le nombre important de tests d'hémolyse pratiqués chez ces malades s'explique par le fait que ces derniers ont été recrutés dans le Service de chirurgie cardio-vasculaire (P^r MICHAUD), à titre systématique, hors de toute suspicion d'hémolyse, comme bilan préopératoire chez des individus devant subir en cours d'intervention une circulation extra-corporelle.

Compte tenu du caractère très particulier des raisons qui ont motivé la demande de tests d'hémolyse dans ces cardiopathies, nous n'avons pas voulu intégrer ces 104 malades dans notre étude analytique, de peur de fausser l'interpré-

tation des résultats des tests, mais nous envisagerons au chapitre suivant le comportement de cette population de malades vis-à-vis des tests d'hémolyse.

Les hémopathies malignes (173 cas), groupe dans lequel nous avons classé les leucémies (95 cas), les affections ganglionnaires malignes (réticulo et lympho-sarcomes, maladie de Hodgkin), les réticuloses malignes, les dysglobulinémies et enfin des hémopathies malignes diverses.

Les cancers (45 cas). Nous entendons sous ce terme les épithéliomas à l'exclusion des tumeurs conjonctives. Ces cancers concernaient l'estomac, le foie, le rein, le côlon, etc.

Les affections hépato-biliaires (151 cas) comprenant cirrhoses, hépatites virales, infectieuses ou toxiques, les affections biliaires, les syndromes bantiens.

Un groupe plus disparate (207 cas) qui comporte les anémies d'origine diverse (maladie de Biermer, anémies hypochromes hémorragiques ou non, anémies aplastiques) les anémies n'ayant pas fait leur preuve étiologique, les mono, bi ou pancytopénies.

Les maladies diverses (248 cas) où le grand nombre d'affections différentes joint au petit nombre de chacune d'entre elles rend impraticable une classification plus poussée en première approximation.

Enfin, *les maladies hémolytiques autonomes*, congénitales ou acquises (72 cas), compte non tenu des anémies hémolytiques secondaires que nous avons groupées dans le cadre de leurs affections causales, nous réservant au chapitre suivant de leur accorder une étude spéciale. Cette distinction peut paraître artificielle. En réalité, c'est l'analyse des résultats, telle que nous allons la faire qui nous permettra de distinguer dans les anomalies constatées et dans leur mode de groupement entre elles au cours des maladies extrêmement diverses, celles qui relèvent d'une hyperhémolyse authentique.

Cette étude analytique porte donc sur 896 examens.

I. — ÉTUDE ANALYTIQUE DES RÉSULTATS DU DOSAGE DE LA BILIRUBINE LIBRE

Nous avons considéré comme pathologiques tous les taux supérieurs à 1 mgr pour 100 ml.

Sur 896 dosages, nous l'avons trouvée élevée 115 fois. Il est à noter que nous avons exclu dans ces cas systématiquement toutes les hyperbilirubinémies qui comportaient la moindre trace de bilirubine conjuguée, et que ces 115 cas ne comportent qu'une hyperbilirubinémie libre seule.

58 fois, cette hyperbilirubinémie ne s'accompagnait d'aucune autre anomalie des tests. Il est intéressant de noter que, dans 14 % des cas seulement, il s'agissait d'une maladie hémolytique autonome, dans 31 % des cas, d'une affection hépatobiliaire, dans 24 % des cas, d'une anémie d'étiologie diverse dans la genèse de laquelle on pouvait, sans l'affirmer, au moins soupçonner une part hémolytique.

57 fois, cette hyperbilirubinémie était associée à une anomalie d'un ou plusieurs autres tests. Dans 56 % de ces cas, il s'agissait de maladies hémolytiques autonomes et dans 24 % des cas, d'une hémopathie susceptible d'entraîner une hémolyse secondaire.

On peut donc conclure à la nécessité de recouper l'hyperbilirubinémie libre isolée par d'autres tests d'hémolyse pour avoir de fortes présomptions en faveur d'une maladie hémolytique, puisque l'on peut trouver en dehors d'une maladie hémolytique une hyperbilirubinémie libre sans trace de conjuguée.

D'ailleurs, cette augmentation de la bilirubine libre ne traduit finalement qu'une limite absolue ou relative de la capacité du foie en glycuco-conjugaison. Cette limite est relative lorsque l'augmentation de l'hémolyse déborde les possibilités d'un foie normal d'excrétion après conjugaison de la bilirubine ; mais cette limite peut être absolue lorsqu'une atteinte hépatique sévère a diminué le capital fonctionnel de la cellule hépatique ou que celui-ci est congénitalement insuffisant

(cholémie). Inversement, une bilirubinémie indirecte normale ne signifie pas hémolyse normale, car dans les grands états anémiques, la poursuite de la destruction d'un pourcentage important de G.R. peut parfaitement ne pas dépasser les possibilités hépatiques en glycuco-conjugaison, pas plus d'ailleurs que les hémolyses frustes.

II. — ÉTUDE ANALYTIQUE DES RÉSULTATS DE LA MESURE DE LA RÉSISTANCE OSMOTIQUE

Nous basant sur les résultats obtenus avec nos 30 témoins, nous avons considéré comme pathologiques :

- les ROI supérieures ou égales à 5,2 et inférieures à 4,
- les ROM supérieures ou égales à 4,6 et inférieures à 3,4,
- Les ROT supérieures à 3,1 et inférieures à 2,5.

A. — LA RÉSISTANCE OSMOTIQUE INITIALE

a) *La diminution de la ROI.* — Nous l'avons enregistrée 155 fois (17 % des cas).

— Globalement, la diminution de la ROI a une chance sur 4 de se rencontrer dans une maladie hémolytique autonome (25 % des cas), une chance sur 3 environ de se trouver dans une hémopathie (30 % des cas).

En fait, il est plus intéressant de considérer ces valeurs de la ROI en fonction du contexte biologique qui les entoure.

— C'est ainsi que, si l'on considère les ROI diminuées de façon isolée, sans qu'une autre anomalie ait pu être détectée par les autres tests pratiqués, on constate que 38 % appartiennent à une hémopathie maligne, 25 % à une anémie d'étiologie diverse, 6 % seulement à une maladie hémolytique autonome.

Ceci revient à dire qu'en présence d'une ROI diminuée isolément, on n'a qu'une chance sur 16 qu'il s'agisse d'une maladie hémolytique autonome, mais par contre, plus d'une chance sur 3 d'avoir affaire à une hémopathie.

Il faut cependant noter que ces pourcentages doivent être

nuancés par la notion que la fragilité globulaire osmotique peut être accrue artificiellement par des conditions défectueuses de prélèvement ou de conservation. En ce qui concerne ce dernier point, nous n'avons pris en considération que les examens pratiqués moins de 48 heures après le prélèvement. Ceci nous conduit quand même à penser que le pourcentage d'anémies hémolytiques ne comportant qu'une diminution de la ROI doit être un peu supérieur.

— Les ROI diminuées associées à une autre anomalie biologique présentent une répartition étiologique toute différente.

En effet, 56 % de ces valeurs appartiennent à des maladies hémolytiques autonomes, sans préjuger pour autant de l'étiologie exacte de celles-ci, congénitales, sphérocytaires ou non, ou acquises auto-immunes ou non.

On retrouve cette association d'une ROI avec un autre test pathologique à un moindre degré au cours des hémopathies malignes (15 %) et des maladies diverses (18 %). Il faut signaler que dans ces cas où une maladie hémolytique autonome est hors de cause, on peut souvent soupçonner une hémolyse secondaire à l'affection causale. Ceci introduit la notion qu'une ROI diminuée, associée à une anomalie d'autres tests biologiques d'hémolyse (bilirubinémie libre, RM, Coombs...) révèle très souvent un processus hémolytique.

b) *Les ROI normales* représentent le lot le plus important numériquement de notre étude (712 cas, soit 79 %).

L'étude de la répartition dans les différents groupes pathologiques montre que 4 % seulement des ROI normales appartiennent à une maladie hémolytique autonome. Cette proportion augmente, mais peu, si l'on considère les ROI normales associées à une anomalie biologique (10 %).

Enfin, si l'on considère une ROI normale, dans un contexte biologique également normal, il reste quand même 5 % de chances qu'il s'agisse d'une maladie hémolytique autonome.

c) *Les ROI augmentées.* — Elles sont rares (30 cas, soit 4 %).

On les trouve 1 fois sur 4 isolées. Près d'une fois sur 2 (14 fois sur 30) cette augmentation correspondait à la présence

d'une hyperbilirubinémie mixte. Dans les cas où on ne notait pas la présence de bilirubine directe dans le sérum, il s'agissait 1 fois sur 5 d'une thalassémie, et 4 fois sur 5, nous avons noté une anémie notable.

La mesure de la ROI à elle seule ne reflète finalement que le comportement de la population de G.R. la plus fragile vis-à-vis des solutions hypotoniques. Il est donc difficile de juger une fragilité globulaire sur ses seuls résultats.

B. — LA RÉSISTANCE OSMOTIQUE MOYENNE

Elle juge la résistance à l'hémolyse osmotique de la moitié des G.R., ce qui constitue une image beaucoup plus représentative du comportement de l'ensemble des hématies. Malheureusement, dans notre étude, nous ne pouvons pas faire état d'autant de ROM que de ROI, la ROM n'ayant été pratiquée que 817 fois sur 896. Cependant, si l'on envisage les résultats simultanés des mesures de ces deux résistances osmotiques, on fait les constatations suivantes.

a) *La ROM diminuée.* — La ROM détecte des fragilités globulaires plus souvent que la ROI (6 fois sur 88). Il faut signaler que cette supériorité discrète de la ROM sur la ROI joue autant sur les résistances osmotiques des hémopathies, des maladies diverses ou des maladies hémolytiques autonomes. Dans les 2 cas où la ROM révélait une fragilité globulaire qu'ignorait la ROI dans ces dernières, il ne s'agissait pas de sphérocytose héréditaire, et nous ne pensons pas que la mesure de la ROM donne des renseignements supérieurs à ceux de la ROI dans les sphérocytoses héréditaires, même frustes.

b) *La ROM normale.* — L'opinion précédente est confirmée par l'étude comparée des valeurs normales de la ROM et des valeurs de la ROI. La corrélation reste bonne entre ces deux mesures dans les valeurs normales puisqu'il n'y a pas de différence entre leurs résultats dans 91 % des cas. Il reste cependant 9 % des cas où la ROI détecte une fragilité globulaire inapparente dans les résultats de la ROM.

Or, il est intéressant de noter que si l'on envisage les 9 cas où cette discordance est apparue dans l'expertise d'une maladie

hémolytique autonome, il s'agissait 6 fois d'une sphérocytose héréditaire certaine et 3 fois d'une anémie hémolytique non étiquetée.

Les autres cas de discordance (ROI diminuée, ROM normale) se répartissent également entre des hémopathies malignes (surtout les leucoses aiguës), des anémies d'origines diverses (surtout des anémies hypochromes non hémorragiques), enfin, des maladies diverses sans qu'il soit possible dans ce cas-là de préciser une étiologie particulière.

c) *La ROM augmentée.* — C'est dans ce cas-là que les discordances sont les plus flagrantes puisque sur 57 ROM augmentées, 34 s'accompagnaient d'une ROI normale.

Si l'on envisage les rétentions biliaires, il ne semble pas que la mesure de la ROM apporte beaucoup plus que celle de la ROI puisque nous la trouvons augmentée dans les mêmes proportions.

Nous avons trouvé 4 fois une ROM augmentée dans les maladies hémolytiques autonomes, et il s'agissait dans ces 4 cas d'une thalassémie, alors que la ROI ne pouvait nous la faire soupçonner que 2 fois. Ces 4 cas représentent quand même une proportion de 1/6 des augmentations de la ROM en dehors des rétentions biliaires.

En dehors des rétentions biliaires et des thalassémies, les augmentations de la ROM se répartissent à peu près également dans les groupes pathologiques avec une préférence pour les anémies hypochromes et les leucoses aiguës.

C. — LA RÉSISTANCE OSMOTIQUE TERMINALE

Son étude n'a pas la même signification que celle de la ROM. La ROT reflète en effet la résistance des hématies les plus solides, c'est-à-dire, en pratique, des plus jeunes.

a) *La ROT diminuée.* — Nous ne l'avons trouvée que 14 fois sur 896 mesures. 1 fois sur 2, cette diminution correspondait à une diminution de la ROI. La répartition de ces cas dans les groupes pathologiques montre simplement que ces valeurs basses se rencontrent rarement dans les maladies hémoly-

tiques autonomes (2 cas, mais il s'agissait 2 fois de sphérocytose héréditaire). Nous les avons rencontrées plus volontiers dans les hémopathies (6 cas).

c) *La ROT normale* se rencontre dans la majorité des cas, et cette valeur se répartit également entre les différents groupes pathologiques.

c) *La ROT augmentée.* — Elle signifie qu'existe une population d'hématies particulièrement résistantes. Il aurait été intéressant de comparer ces valeurs avec le taux de réticulocytes qui nous manque malheureusement dans la plupart de nos observations. Sur les 188 cas de ROT augmentée que nous avons relevés, on constate que 6 % de ces cas seulement correspondent à une maladie hémolytique autonome (4 thalassémies, 4 sphérocytoses, 4 anémies hémolytiques d'origine indéterminée) et 94 % se répartissaient à peu près également dans les autres groupes.

Il nous a paru plus intéressant de comparer la ROT avec deux signes biologiques :

- avec la présence d'une hyperbilirubinémie mixte : 30 % des cas de ROT augmentée s'accompagnaient d'une bilirubinémie conjuguée ;
- avec l'existence d'une anémie notable : c'est 1 fois sur 2 que nous avons trouvé que l'augmentation de la ROT répondait à une anémie importante.

Si l'on admet que ces augmentations de la ROT mettent en évidence une réticulocytose, on ne peut être que surpris de la relative rareté des anémies hémolytiques présentant une telle anomalie. Il faut donc conclure que les G.R. les plus résistants ne sont pas représentés uniquement par les réticulocytes.

III. — ÉTUDE ANALYTIQUE DES RÉSULTATS DE LA RÉSISTANCE MÉCANIQUE (RM)

Nous avons considéré comme pathologiques les chiffres inférieurs à 5 % et supérieurs à 11 %.

Il est bien certain que l'existence d'une population de G.R. fragiles susceptibles d'entraîner une hémolyse initiale osmotique prématurée, ou celle d'un lot de G.R. très résistants, augmentant donc la ROT, ne peut influencer beaucoup une résistance à l'agitation qui, elle, s'adresse à l'ensemble des G.R. Si donc, il y a une relation entre résistance osmotique et résistance mécanique, c'est au niveau de la ROM qu'elle se situe.

a) *La RM diminuée.*

En ce qui concerne les maladies hémolytiques autonomes, on constate que la RM révélait une fragilité qu'ignorait la ROM dans 14 cas, et il est intéressant de noter que sur ces 14 cas, il s'agissait 6 fois d'une sphérocytose héréditaire certaine. Il semble donc bien que la RM présente là un intérêt, discuté chez certains auteurs, mais bien admis par d'autres. Il faut quand même apporter au crédit de la résistance osmotique que 27 fois sur 32 cas de RM diminuée, la ROI était diminuée. Dans les 5 cas où la RM était seule à révéler une fragilité globulaire, il s'agissait de maladies hémolytiques dont l'étiologie exacte n'a pu être précisée.

Nous avons trouvé 19 fois une RM diminuée dans les hémopathies sans qu'une étiologie plus particulière puisse être invoquée à l'origine de cette fragilité mécanique. Nous ne pouvons signaler que les 4 fois où cette diminution de la RM correspondait à une diminution de la ROM, il s'agissait d'un syndrome hémolytique secondaire authentifié par d'autres tests. Parmi les 15 cas où la RM ne correspondait pas à la ROM, nous n'avons pu affirmer biologiquement un syndrome hémolytique que 2 fois. Sans vouloir conclure formellement, on ne peut que constater que la RM présente au niveau des sphérocytoses un intérêt, par rapport à la ROM, qu'on ne retrouve pas dans les syndromes hémolytiques secondaires.

Au cours des anémies d'étiologie variée où nous avons trouvé 10 fois une diminution de la RM, celle-ci ne coïncidait jamais avec une ROM diminuée. Nous ne pouvons que signaler que sur ces 10 cas, 2 concernaient une anémie de Biermer, les autres se répartissant dans des circonstances étiologiques aussi diverses que possible.

b) *La RM normale.*

Son étude permet d'apporter une confirmation de nos conclusions précédentes en ce qui concerne les maladies hémolytiques autonomes ; en effet, sur les 6 cas de maladie hémolytique autonome où une ROM diminuée voisinait avec une RM normale, il ne s'agissait qu'une fois d'une sphérocytose.

Dans l'ensemble, la concordance entre les valeurs normales de la ROM et de la RM est correcte (75 % des cas). En dehors des maladies hémolytiques autonomes, les discordances entre une RM normale et une ROM diminuée se répartissent également dans les différents groupes pathologiques sans que l'on puisse mettre en évidence une étiologie particulièrement marquante.

c) *La RM augmentée.*

Là encore, on trouve une nette prédominance des augmentations de la RM dans les rétentions biliaires (38 % des cas).

En dehors de cette constatation, nous avons été frappé par la fréquence des RM augmentées, surtout isolées, dans les cancers (7 fois sur 40 augmentations de la RM, mais il faut rappeler que notre population de cancers est faible : 45 cas), sans pour autant qu'on trouve une explication satisfaisante à ce fait.

Quant aux anémies hémolytiques autonomes, les 2 cas où nous avons trouvé une telle anomalie étaient des thalassémies.

IV. — ÉTUDE ANALYTIQUE DES RÉSULTATS DE LA RÉSISTANCE ACIDE (RA)

Pratiquée systématiquement sur tous les sangs examinés, nous l'avons trouvée pathologique 5 fois. Il est évident que nous n'avons tenu compte que des RA pathologiques en sérum possédant son complément. Chaque fois que nous avons découvert une résistance acide positive, nous avons fait le contre-épreuve, d'une part avec des G.R. isogroupes normaux et le sérum du malade, d'autre part avec les G.R. du malade en présence de son propre sérum décomplémenté.

Nous avons, en effet, trouvé 3 fois une résistance acide positive dans les conditions habituelles de l'examen, mais qui restait positive en sérum décomplémenté : il s'agissait deux fois d'une sphérocytose héréditaire, une fois d'une intoxication.

Ces 5 cas de résistance acide positive ne s'accompagnaient pas d'anomalie des autres résistances globulaires (sauf 1 fois, une RM diminuée), mais par contre étaient constamment associés à une hyperbilirubinémie libre.

La spécificité de ce test, quand il est positif, jointe à la pauvreté des renseignements donnés par les autres tests, justifie à nos yeux sa pratique systématique.

V. — ÉTUDE ANALYTIQUE DES RÉSULTATS DU TEST DE COOMBS

Nous avons considéré comme pathologique tout test de Coombs positif, si discrète que soit sa positivité. Il importe de distinguer *a priori* les tests de Coombs positifs avec un sérum « anti-gamma-globulines » et les tests de Coombs positifs avec un sérum « anti-non-gamma-globulines ».

a) *Les tests de Coombs positifs avec un sérum anti-gamma-globulines.*

Nous en avons trouvé 27 cas :

— 17 fois ce test était associé à une autre anomalie du bilan biologique (63 % des cas) ;

— 10 fois il était isolé (37 % des cas).

Dans 40 % des cas, il s'agissait d'une maladie hémolytique autonome idiopathique.

b) *Les tests de Coombs positifs avec un sérum anti-non-gamma-globulines.*

Nous l'avons trouvé positif dans 42 cas :

— 18 fois sur 42 (43 %), ce test était accompagné d'un autre signe biologique ;

- 24 fois sur 42 (57 %), ce test était strictement isolé ;
- 6 fois sur 42 (14 %), cette positivité a été trouvée au cours d'une maladie hémolytique autonome, et il est intéressant de noter que, dans ces 6 cas, il était accompagné d'un autre signe biologique d'hémolyse.

Par contre, dans les 36 cas où ce test a été trouvé positif, au cours d'une maladie caractérisée, 24 fois, soit $\frac{2}{3}$ des cas, il n'y avait aucun autre symptôme clinique ou biologique d'hémolyse.

c) *Interprétation des tests de Coombs.*

Nous considérons *a priori* que le revêtement gamma-globulinique des hématies signe la présence sur elles d'auto-anticorps « chauds » (que nous avons d'ailleurs authentifiés par la recherche de l'agglutination à chaud) et l'existence d'un processus hémolytique. On constate d'ailleurs que cette agression érythrocytaire trouve sa confirmation dans 2/3 des cas par la présence d'une autre anomalie biologique (fragilité globulaire ou hyperbilirubinémie).

Par contre, la signification exacte d'un test de Coombs non-gamma-globulinique est plus difficile à saisir. DACIE propose 3 hypothèses. Ce test détecterait : soit le complément fixé sur les hématies et qui n'est pas une gamma-globuline. Cette fixation du complément n'est possible que si les hématies sont revêtues par des anticorps froids ; or, sur nos 42 Coombs « non-gamma » nous n'avons trouvé qu'une fois des anticorps complets froids ; soit une protéine normale du sérum fixé anormalement sur des hématies préalablement endommagées ; soit un anticorps authentique, mais de nature non-gamma-globulinique, peut-être représenté par des anticorps incomplets froids. En ce qui concerne les maladies hémolytiques autonomes à Coombs « non-gamma », nous pencherions volontiers pour cette dernière hypothèse.

Enfin, on pourrait admettre la fixation sur des hématies normales d'une protéine anormale du sérum. Nous n'avons pas malheureusement de données précises sur les protéines sériques des malades que nous avons examinés. On peut noter

qu'une seule fois, nous avons trouvé un Coombs « non-gamma » sur les hématies d'une dysglobulinémie et une fois sur les hématies d'un malade porteur d'une hépatite toxique, maladies qui, *a priori*, comportent des troubles protéiques sériques.

VI. — RECHERCHE DES AGGLUTININES FROIDES

Nous n'en avons trouvé que 3 fois à des taux pathologiques (supérieurs à 1/32). 2 fois, elles ont été découvertes au cours de maladies caractérisées, une fois au cours d'une maladie hémolytique autonome. Dans ces 3 cas, elles s'accompagnaient d'autres signes biologiques d'hémolyse, mais nous n'avons trouvé qu'une fois un Coombs positif, avec un sérum « anti-non-gamma ».

VII. — RECHERCHE DES ANTICORPS SÉRIQUES VIS-A-VIS DES HÉMATIES TRYPSINISÉES

Cette recherche a été positive dans 22 cas. 5 fois, ces anticorps sériques ont été découverts au cours de maladies hémolytiques autonomes, dont 4 étaient auto-immunes, permettant ainsi d'affirmer la présence d'auto-anticorps dans le sérum.

8 fois, il s'agissait d'hémopathies dont 2 présentaient un syndrome hémolytique secondaire auto-immun authentique, et dont 6 concernaient des malades polytransfusés. Nous avons d'ailleurs trouvé 2 fois une spécificité de groupe (anti-E et anti-D).

Dans les autres cas il s'agissait de maladies diverses dont une présentait un syndrome hémolytique secondaire à auto-anticorps.

Au total, sur ces 22 cas où la présence d'anticorps sériques a pu être mise en évidence, il s'agissait 3 fois d'une iso-immunisation certaine et 7 fois d'une maladie hémolytique auto-immune. Dans les autres cas, nous n'avons pas trouvé de spécificité de groupe, ni par ailleurs, d'anticorps fixés sur les G.R. du malade. Ne serait-ce que par la découverte d'iso-anticorps chez des malades souvent polytransfusés, cette recherche est intéressante, car elle permet de prévenir les accidents transfusionnels lors des transfusions ultérieures.

VIII. — DOSAGE DE L'HÉMOGLOBINE F

Ce dosage pratiqué de façon systématique depuis une période récente, nous a permis de découvrir 10 thalassémies en un peu plus d'un an, alors que l'étude des autres tests pratiqués ne nous aurait fait soupçonner, sans l'affirmer, ce diagnostic que trois fois.

CONCLUSION

Il semble que la pratique systématique de ces différents tests nous permet de couvrir un éventail hémolytique assez large. Il est regrettable que la numération des réticulocytes, si utile au diagnostic positif d'une hémolyse, soit devenue systématique au laboratoire d'immuno-hématologie du C.T.S. de Lyon trop tard pour que nous puissions en faire état. Il faut reconnaître d'ailleurs que le contrôle de toutes les observations ne nous a pas permis de découvrir souvent des numérations de réticulocytes effectuées dans d'autres laboratoires. Il semble en tout cas, que la recherche de signes biologiques d'hémolyse à visées diagnostique autant qu'étiologique doive être pratiquée dans un même laboratoire spécialisé, au moins en ce qui concerne le dépistage, courant de l'hémolyse.

Il nous semble qu'avec les tests qui ont été pratiqués au cours de ces 1 000 examens, à la réserve près, maintenant supprimée, qu'on numère les réticulocytes, on puisse faire un diagnostic positif de maladie hémolytique et donner aux cliniciens une orientation étiologique valable. Pour ce faire, tous les tests pratiqués sont indispensables (sinon suffisants) à l'exception peut-être de la recherche des anticorps vis-à-vis des hématies trypsinisées dont l'intérêt, nous l'avons vu, est moins d'ordre « hémolytique » que transfusionnel.

CHAPITRE IV

ÉTUDE SYNTHÉTIQUE DES TESTS D'HÉMOLYSE EN FONCTION DES CIRCONSTANCES ÉTIOLOGIQUES DE LEURS ANOMALIES

Après avoir analysé chaque test et sa signification diagnostique et étiologique, nous nous proposons maintenant de dresser un tableau des syndromes hémolytiques authentiques, primitifs ou secondaires, que nous avons rencontrés, sans en faire une description complète, mais en notant seulement les faits qui nous ont paru caractéristiques.

Dans une deuxième partie, nous essayerons de comprendre la signification, au cours de différentes maladies, de l'existence d'une anomalie de nos tests, insuffisante pour que l'on puisse parler d'anémie hémolytique, mais qui donne cependant une « note » hémolytique à ces maladies. Nous verrons dans quelle proportion ces anomalies se rencontrent au cours de chaque affection.

I. — LES SYNDROMES HÉMOLYTIQUES VRAIS

A. — LES MALADIES HÉMOLYTIQUES PRIMITIVES.

Nous entendons sous ce nom tout syndrome hémolytique découvert en dehors de toute autre affection cliniquement décelable. Nous avons eu l'occasion, dans notre étude, d'en relever 72 cas différents que nous avons classés en maladies hémolytiques congénitales et acquises.

1^o *Les maladies hémolytiques congénitales.*

a) *La sphérocytose héréditaire ou maladie de Minkovski-Chauffard.*

Nous en avons relevé 25 cas différents.

Cliniquement, tous nos cas concernaient des individus jeunes, le plus âgé ayant 50 ans, le plus jeune 14 jours. Les signes d'appel clinique qui avaient fait demander la recherche d'une hémolyse étaient variables : 12 fois existait un syndrome hémolytique clinique complet, avec anémie, ictère, splénomégalie ; 3 fois, la tare a été découverte en raison d'une parenté avec un malade connu ; les 10 autres cas comportaient cliniquement un seul symptôme (2 cas) ou l'association de 2 symptômes (5 cas) ; enfin, 3 cas concernaient des malades déjà splénectomisés pour leur maladie.

Biologiquement, le tableau est assez univoque, associant des signes positifs d'hémolyse (16 fois une hyperbilirubinémie libre) et surtout une fragilité globulaire tant osmotique que mécanique (23 fois une diminution de la RO, 16 fois une diminution de la RM sur 17 mesures).

Il semble que ce soit la diminution simultanée de la ROI et de la RM qui présente le plus d'intérêt dans le diagnostic biologique de cette maladie, puisque nous l'avons trouvée 16 fois sur les 17 cas où les 2 mesures avaient été effectuées conjointement.

En ce qui concerne les examens des malades splénectomisés, nous n'avons pas trouvé de différence notable (il faut noter que nous n'avons pas eu connaissance des résultats de leurs tests avant l'intervention et par conséquent, n'avons pas pu juger de leurs modifications éventuelles). On peut signaler que la seule valeur normale de la RM appartenait à l'un d'eux, les autres ayant une RM diminuée. Les RO étaient diminuées mais un seul malade présentait une hyperbilirubinémie libre.

Nous avons pas pratiqué chez ces malades l'étude de l'auto-hémolyse et n'avons ainsi pu vérifier que l'auto-hémolyse spontanée anormale était corrigée par l'adjonction de glucose (DACIE).

b) *Les thalassémies.*

Nous en avons relevé 10 cas.

Il s'agissait 6 fois d'individus originaires du pourtour méditerranéen ce qui confirme la note raciale de cette maladie.

Quant à la clinique, elle ne comportait que 2 fois un syndrome hémolytique complet dont 1 cas de thalassémie majeure.

Biologiquement, il est plus intéressant de noter que dans 3 cas, c'est l'hypochromie qui a amené à rechercher les signes d'hémolyse, et 2 fois il s'agissait de polyglobulies hypochromes.

Comme il est classique, nous avons trouvé des RO augmentées (4 cas) ou normales (5 cas), une seule fois elles étaient diminuées. La RM, que nous pensions trouver diminuée, s'est révélée normale finalement, sauf dans 2 cas où elle était augmentée.

Quant au taux d'hémoglobine F, il était très variable, jusqu'à 50 % dans un cas de thalassémie majeure, oscillant le plus souvent entre 2 et 6 %.

c) *Les autres maladies hémolytiques héréditaires.*

Nous n'en avons observé qu'un seul cas, celui d'une maladie hémolytique héréditaire non sphérocytaire (DACIE, type I).

Cliniquement porteur d'un syndrome hémolytique complet, ce jeune malade (12 ans) présentait biologiquement des tests très peu évocateurs en dehors d'une hyperbilirubinémie libre. Ce n'est que sur l'auto-hémolyse que le diagnostic a pu être fait en montrant une auto-hémolyse subnormale augmentée par l'adjonction de glucose. On ne peut, bien sûr, déduire de ce cas unique la physionomie de ce type d'anémie hémolytique, mais nos constatations dans ce cas précis sont conformes à celles de DACIE.

Nous n'avons pas eu l'occasion d'observer d'autres maladies hémolytiques héréditaires non sphérocytaires (DACIE, type II) caractérisées biologiquement par une auto-hémolyse anormale, non corrigée par l'adjonction de glucose. Nous n'avons pas eu non plus à examiner le sang de malades porteurs d'une hémoglobinopathie.

2° *Les maladies hémolytiques primitives acquises.*

a) *Les maladies hémolytiques auto-immunes.*

Nous groupons sous ce titre deux ordres de faits de signification différente : les maladies hémolytiques dans lesquelles

le test de Coombs a été trouvé positif avec un sérum anti-gamma-globulines et qui sont les vraies maladies hémolytiques à autoanticorps « chauds » et les maladies hémolytiques dans lesquelles le test de Coombs était positif avec un réactif « anti-non-gamma-globulines ».

Les maladies hémolytiques auto-immunes vraies.

Nous en avons relevé 11 cas.

Cliniquement, l'âge de survenue se situe habituellement chez l'adulte mûr (8 cas), rarement chez le jeune (1 cas) et chez le vieillard (2 cas). L'aspect clinique est celui d'un hémolyse chronique puisque nous avons relevé 6 fois un syndrome hémolytique clinique complet et 3 fois une anémie isolée. Dans 2 cas, le diagnostic a été rétrospectif, le malade ayant été examiné 1 mois après une « crise » hémolytique aiguë spontanément curable.

Biologiquement, la physionomie des tests diffère avec la date à laquelle ils sont effectués. Dans les 2 cas où le diagnostic a été rétrospectif, seul existait un test de Coombs positif, alors que les résistances globulaires et la bilirubinémie étaient normales. Par contre, dans les autres cas où l'examen était pratiqué en pleine hémolyse clinique, les stigmates de l'agression érythrocytaire se retrouvaient plus sur les résistances globulaires que sur la bilirubinémie (5 cas contre 7).

On peut parfaitement admettre, qu'en dehors des poussées hémolytiques, seule persiste la signature immunologique d'un processus anti-érythrocytaire devenu insuffisant pour modifier les résistances et entraîner une hyperhémolyse. Nous avons d'ailleurs pu constater ce fait au cours de l'évolution de certaines de ces maladies, voyant disparaître les signes de fragilité globulaire tandis que s'atténuait, mais persistait la positivité du test de Coombs. Cet argument évolutif nous confirme encore dans l'opinion que la positivité d'un test de Coombs « gamma-globulinique » signe formellement un processus hémolytique immunologique.

Les anémies hémolytiques primitives à Coombs « non-gamma-globulinique ».

Nous en avons relevé 6 cas.

Cliniquement, l'âge de survenue nous a paru légèrement supérieur à celui des maladies à auto-anticorps « chauds », la moyenne se situant autour de 65 ans. Il s'agissait toutes les fois d'un tableau hémolytique chronique, 3 fois groupant les signes de la triade classique, 3 fois incomplet.

Biologiquement, l'authenticité de l'hémolyse a pu être prouvée dans tous les cas par des anomalies des résistances globulaires ou de la bilirubinémie.

Sur ces 6 cas, ce test de Coombs « non-gamma-globulinique » révélait une seule fois des agglutinines froides à un taux pathologique (1/512) et nous avons mis en évidence des acido-hémolysines monothermiques. Dans tous les autres cas, il n'y avait pas d'agglutinines froides ou à un taux physiologique (une fois : 1/4).

Sans revenir sur l'interprétation du test de Coombs, de nature « non-gamma-globulinique », nous ne pouvons que constater qu'il existe d'authentiques maladies hémolytiques primitives qui ne sont pas à auto-anticorps « chauds » ni « froids » classiques, mais dont la nature immunologique ne paraît pas devoir être mise en doute. Nous n'avons malheureusement pas recherché dans tous ces cas l'existence d'anticorps incomplets froids dont la présence aurait pu nous donner la clé du diagnostic étiologique.

b) *La maladie de Marchiafava-Micheli ou hémoglobinurie paroxystique nocturne.*

Cliniquement, sur les 5 cas que nous avons eu l'occasion d'observer, 1 seul malade présentait une hémoglobinurie nocturne, les 4 autres ayant un aspect clinique différent : 2 apparaissaient porteurs d'un ictère chronique isolé, 1 présentait un syndrome hémolytique chronique complet, le dernier souffrait de crises hémolytiques aiguës avec hémoglobinémie, mais sans caractère nocturne.

Biologiquement, dans tous les cas, la bilirubinémie libre était élevée et les résistances osmotique et mécanique normales, sauf un cas où cette dernière était diminuée. Finalement, c'est sur l'hémolyse en milieu acide et sur elle seule que nous avons porté le diagnostic. L'originalité de cette fragilité globulaire à l'acidité semble devoir autoriser une individualisation biologique de la maladie.

c) *Les maladies hémolytiques primitives d'origine inconnue.*

Il reste en effet un groupe de 14 malades chez qui l'authenticité d'une hémolyse anormale était affirmée par des données cliniques et par des données biologiques que nous avons recueillies dans les observations (érythroblastose médullaire, diminution de la durée de vie des G.R. marqués).

Il s'agit certainement d'un groupe très hétérogène, et il est impossible d'en proposer une étude synthétique ; aussi, nous contenterons-nous d'en faire l'analyse.

Cliniquement, ces syndromes hémolytiques ont été observés à tous les âges (de 3 mois à 60 ans). L'aspect clinique était assez univoque dans le sens d'un syndrome hémolytique chronique à part 1 cas où existaient des poussées de déglobulisation brutale.

En ce qui concerne le profil biologique de ces maladies, nous n'avons rien trouvé de très caractéristique. 2 fois seulement l'ensemble de nos tests était strictement normal : dans les autres cas, des anomalies des résistances et de la bilirubinémie existaient isolées ou associées. Des recherches plus poussées, dans le sens d'un trouble enzymatique (dosage de la G-6-P-D), se sont avérées négatives. Aucune donnée étiologique n'a pu être trouvée dans les observations de ces malades, pas plus dans les anamnestiques que dans l'histoire clinique ou dans les résultats biologiques.

Nous pouvons conclure que l'exploration biologique de l'hémolyse, si elle permet, le plus souvent, de préciser une étiologie, échoue dans un certain nombre de cas et qu'il reste, en matière d'hémolyse, des inconnues.

B. — LES MALADIES HÉMOLYTIQUES SECONDAIRES.

Nous n'avons pas la prétention de faire une revue générale de tous les syndromes hémolytiques provoqués par des agresseurs extrinsèques ou secondaires à une affection déterminée, mais seulement de donner une idée de la nature et de la fréquence de ceux que nous avons observés.

1^o *Les hémolyses infectieuses.*

Nous en avons observé 9 cas : il s'agissait de septicémies à l'origine desquelles *Clostridia Welchii* étaient nettement majoritaires (8 cas). Notre dernière observation concernait le cas d'une septicémie à pyocyaniques.

Cliniquement, le tableau était celui d'une hémolyse suraiguë fébrile, avec hémoglobinurie précédant de peu une anurie, douleurs musculaires, etc.

Biologiquement, le signe le plus constant était l'hémoglobinémie que nous avons observée dans 8 cas. Les taux étaient élevés, variant entre 160 et 3 300 mg/100 ml de plasma. L'hyperbilirubinémie, quand elle a pu être dosée (7 cas), était le plus souvent de type mixte (4 cas), signant la participation hépatique dans sa genèse. Nous n'avons trouvé 2 fois qu'une hyperbilirubinémie libre et une fois un taux normal.

L'incidence de l'agression infectieuse sur les résistances globulaires était patente 7 fois sur 9, tant sur les résistances osmotique que mécanique.

Enfin il faut signaler que, dans 2 cas, nous avons pu mettre en évidence sur les hématies, un revêtement globulinique, une fois de nature gamma, une fois de nature non-gammaglobulinique. L'interprétation de ce test de Coombs, dans un tel contexte biologique, relève, semble-t-il, de l'hypothèse que nous avons déjà envisagée, de la fixation de protéines sériques non spécifiques sur des hématies endommagées.

Il importe de noter que ces examens ont été pratiqués à une date très précoce de l'évolution de la maladie (2^e, 3^e jour) et que les examens effectués plus tardivement se sont révélés normaux au moins en ce qui concerne hémoglobinémie et

résistance globulaire. Ceci confirme l'opinion généralement admise que l'hémolyse, au cours des septicémies à *perfringens*, est bruyante, mais brève et que le tableau est rapidement dominé par l'hépto-néphrite.

2° Les hémolyses parasitaires.

Nous n'en avons observé qu'un seul cas, et encore est-il discutable. Il s'agissait d'un paludéen de 34 ans, présentant une anémie et une splénomégalie. Les examens biologiques que nous avons pratiqués étaient normaux, et ce n'est que sur la clinique et d'autres signes biologiques que l'hémolyse a été affirmée.

3° Les hémolyses toxiques.

Nous avons recherché des signes d'hémolyse dans 6 cas d'intoxication :

- dans 2 cas, il s'agissait d'une intoxication aiguë à la quinine. Les examens avaient été demandés une fois devant une hémoglobinurie, une fois à titre systématique. Dans les 2 cas, nous avons trouvé une fragilité globulaire osmotique et une fois une RA positive en sérum décomplémenté. Nous n'avons malheureusement pas eu la notion d'un dosage de la G-6-P-D dont la carence est classiquement à la base de l'intolérance à la quinine ;
- dans 2 cas, il s'agissait de la recherche pratiquée à titre systématique, de signes d'hémolyse chez des individus mordus par une vipère grise. Nous n'avons pas trouvé de signe biologique d'hémolyse, en dehors d'une hyperbilirubinémie libre dans un seul cas et dont l'interprétation hémolytique est discutable ;
- dans 1 cas, il s'agissait d'une hémoglobinurie toxique d'origine imprécise. *Cliniquement* certaine, l'hémolyse ne pouvait être évoquée biologiquement que sur une hyperbilirubinémie libre ;
- enfin, nous avons observé 1 cas de favisme. Traduit cliniquement par une déglobulisation brutale chez un

enfant de 11 ans, nous avons pu en apporter la preuve, non par les examens de routine qui étaient normaux, mais par la découverte d'un abaissement du taux de la G-6-P-D et de la diminution du pouvoir inhibiteur du sérum vis-à-vis de la phytoagglutinine.

4^o *Les hémolyses immunologiques secondaires.*

a) *Les anémies hémolytiques secondaires à auto-anticorps chauds.*

Nous en avons observé 15 cas.

Cliniquement, l'existence d'un syndrome hémolytique chronique patent, sinon au premier plan de la scène clinique, pouvait être affirmée dans 7 cas. Dans 5 cas, un signe d'appel clinique (anémie, splénomégalie ou ictère) pouvait évoquer l'hémolyse. Enfin, dans 3 cas, la découverte a été faite à l'occasion d'un examen systématique.

Biologiquement, le test de Coombs positif, avec un sérum « anti-gamma-globulines », condition nécessaire et suffisante pour affirmer le diagnostic, était recoupé dans 9 cas par une autre anomalie du bilan biologique (hyperbilirubinémie libre isolée : 4 cas ; une fragilité globulaire : 1 cas ; ou les 2 anomalies associées : 4 cas).

Etiologie : les *hémopathies malignes* sont très largement majoritaires dans notre étude puisqu'elles sont responsables de 12 cas. Dans cette catégorie pathologique, il s'agissait 5 fois de leucémies lymphoïdes et du même nombre de réticuloses malignes diffuses. Nous avons encore découvert des anticorps chauds dans 1 cas de leucose aiguë et dans 1 cas d'adénopathies médiastinales malignes dont la nature exacte n'était pas précisée.

Les autres affections : à part 1 cas observé dans une cardiopathie valvulaire, exploré sur le plan hémolytique pour une anémie aiguë, nous avons noté un syndrome hémolytique secondaire chez un malade porteur d'un diabète et d'une néphropathie chronique et chez un malade présentant une collagénose (polymyosite).

Dans les 2 premiers cas, il est difficile de conclure formellement au caractère secondaire du syndrome hémolytique, et il peut très bien s'agir d'une auto-immunisation primitive, simplement juxtaposée aux autres troubles pathologiques.

b) *Les anémies hémolytiques secondaires à anticorps froids.*

Nous en avons observé 2 cas, qui, cliniquement, étaient caractérisés par un syndrome hémolytique chronique. Il s'agissait une fois d'un syndrome de Banti, une fois d'une myélose aleucémique mégacaryocytaire. Dans les 2 cas, l'authenticité de l'hémolyse était confirmée par des résistances globulaires pathologiques et par l'hyperbilirubinémie. Les anticorps froids complets à un taux élevé (1/128) n'étaient suspectés qu'une fois sur le test de Coombs (« non-gamma »).

c) *Les anémies hémolytiques secondaires à Coombs positif « non-gamma ».*

Au même titre que dans les hémolyses primitives, il semble que l'on puisse affirmer l'existence d'authentiques syndromes hémolytiques secondaires à Coombs « non-gamma-globulinaire » sans anticorps complets froids.

Mais sur les 35 cas de Coombs « non-gamma » qui ne correspondaient pas à des anticorps froids, se pose le problème de reconnaître ceux qui sont à l'origine d'une hémolyse. Le choix est difficile et peut paraître arbitraire. Cependant, nous fondant sur le fait que toutes les anémies hémolytiques primitives à Coombs « non-gamma » présentaient une autre anomalie biologique, nous avons choisi ces mêmes critères pour définir nos anémies hémolytiques secondaires.

Si l'on s'en tient à cette définition, c'est 10 cas de cette sorte que nous avons eu à observer.

Cliniquement, 2 seulement présentaient des symptômes franchement évocateurs d'hémolyse, les autres ayant l'aspect d'une anémie banale isolée. Nous ne reviendrons pas sur les signes biologiques d'accompagnement qui servent de support à notre définition. Notons seulement que les fragilités globu-

lares étaient nettement augmentées ou l'hyperbilirubinémie indiscutable.

Étiologie. Là encore, comme pour les maladies secondaires à anticorps chauds, les hémopathies malignes viennent en tête avec 5 cas, dont 2 leucémies lymphoïdes, 2 leucoses aiguës et 1 réticulo-sarcome. Mais cette étiologie est moins univoque puisque les 5 autres cas se répartissent entre anémies diverses (1 cas : maladie de Blackfan-Diamond), affections hépato-biliaires (2 cas). Enfin, 2 cas concernaient des poussées hémolytiques survenant après une affection virale (pneumopathie).

Les 25 autres cas sont plus difficiles à interpréter, et là encore nous proposons une distinction artificielle et arbitraire entre hémolyse probable et hémolyse possible.

Les hémolyses probables. Cette probabilité d'une hémolyse est fondée sur des arguments purement étiologiques, qui ne nous paraissent pas suffisants pour affirmer une hémolyse en dehors d'un contexte biologique indiscutable.

Nous avons retenu 12 cas où les circonstances pathologiques dans lesquelles a été découvert un test de Coombs positif, plaident en faveur d'une maladie hémolytique secondaire.

Les hémopathies malignes jouent, là encore, un rôle de premier plan avec 10 cas dont 3 lymphoses, 2 réticuloses malignes, 2 réticulo-sarcomes, 2 leucoses aiguës. Le dernier cas, concernant un myélome, nous paraît plus discutable en raison de la signification particulière qu'un Coombs « non-gamma » peut revêtir dans les dysglobulinémies. Les deux derniers cas concernaient des malades porteurs d'un lupus érythémateux disséminé dont on connaît la propension à s'accompagner de manifestations hémolytiques auto-immunes.

Les hémolyses possibles. Cette dernière catégorie de 13 cas renferme des sujets chez lesquels rien ne permet d'affirmer, ni d'éliminer formellement un processus hémolytique. Ils se recrutent surtout dans les anémies d'origines diverses (2 anémies hémorragiques, 2 anémies aplastiques, 1 maladie de Biermer) et dans les maladies diverses (8 cas) sans que le

détail de ces dernières nous apporte un élément quelconque pour ou contre un processus hémolytique.

La répartition des maladies hémolytiques au cours de notre étude se trouve résumée dans le tableau ci-dessous :

RÉPARTITION DES MALADIES HÉMOLYTIQUES

				Nombre de cas	
Maladies hémolytiques primitives	{	Congénitales ..	Sphérocytose héréditaire	25	
			Thalassémie	10	
			Dacé type I	1	
	{	Acquises	Auto-immunes.	à Ac chauds ...	11
				à Ac froids ...	1
				à Coombs non γ	5
			Marchiafava Micheli	5	
Etiologie inconnue	14				
TOTAL				72	
Maladies hémolytiques secondaires	{		Infectieuses	9	
			Parasitaires	1	
			Toxiques	5	
	{	Auto-immunes.	Anticorps chauds	15	
			Anticorps froids	2	
			à Coombs non γ	Certaines	10
				Probables	12
				Possibles.....	13
TOTAL				67	

Nous avons donc recensé au laboratoire d'immuno-hématologie du C.T.S. de Lyon, au cours d'une période d'un peu plus d'un an, 139 maladies hémolytiques dont 114 certaines, que se partagent, à peu de chose près, les syndromes primitifs et les syndromes secondaires.

Il nous reste à envisager maintenant, pour chaque affection que nous avons rencontrée au cours de cette étude, le « profil hémolytique biologique » de cette maladie.

II. — LE PROFIL HÉMOLYTIQUE BIOLOGIQUE DES DIFFÉRENTES MALADIES

Notons, tout de suite, que ce terme de profil hémolytique d'une affection est abusif puisque nous tenons compte uniquement des individus chez lesquels les tests ont été pratiqués, sans avoir une idée quelconque de la fréquence absolue de la maladie dont ils sont porteurs pendant la période envisagée. Ceci fausse certainement, mais dans une proportion que nous ignorons, les pourcentages que nous avançons ci-dessous. Ceux-ci doivent donc être pris en considération avec les plus extrêmes réserves sur leur signification réelle et nous ne les avons calculés que pour donner un ordre d'idée des fréquences, peut-être valables à l'échelon du laboratoire, mais sûrement excessives à l'échelon du clinicien.

A. — LES CARDIOPATHIES.

Nous avons hésité, au début de notre travail, à prendre comme « témoins normaux » ce groupe de 104 malades composés pour la plus grande part de cardiopathies valvulaires acquises ou congénitales, *a priori* indemnes de toute affection hémolytique. Finalement, nous avons, par souci de rigueur, préféré les étudier à part et les considérer comme un groupe pathologique autonome.

Les résultats des tests d'hémolyse chez ces malades sont en réalité très proches des chiffres normaux donnés par notre étude témoin et rien ne permet de penser *a priori* qu'une cardiopathie valvulaire quelconque, tout au moins à un stade évolutif pas trop tardif, comme c'était le cas pour notre étude, puisse entraîner des modifications des résistances globulaires. Notons seulement que dans cette population d'individus, nous avons trouvé quatre fois une ROI diminuée et huit fois une ROT augmentée.

B. — LES HÉMOPATHIES.

1. *Les leucémies.*

a) *Les leucémies lymphoïdes.*

Nous avons trouvé, sur 32 lymphoses examinées au laboratoire 7 syndromes hémolytiques secondaires à auto-anticorps certains et 3 probables (31 % des cas). Par ailleurs, nous avons trouvé 9 cas de fragilité globulaire isolés (28 % des cas). Au total, c'est donc dans 59 % des cas que l'on trouve une anomalie biologique, mais de signification très différente.

b) *Les leucémies myéloïdes.*

Sur 29 cas expertisés au laboratoire, nous n'avons pas trouvé un seul syndrome hémolytique vrai, mais par contre, nous avons été frappé par la fréquence de la fragilité globulaire (19 cas, soit 65 % des cas). Il s'agissait le plus souvent (15 fois) d'une diminution isolée de la résistance osmotique initiale. Nous ne trouvons pas d'explication à ces constatations.

c) *Les leucémies aiguës.*

Sur 34 leucémies aiguës, nous avons trouvé 3 syndromes hémolytiques certains et 2 probables (14 %) et 16 cas où une anomalie isolée attirait l'attention. Là encore cette anomalie portait sur les résistances globulaires.

2. *Les réticulopathies malignes.*

Sur 18 cas comportant réticuloses malignes et lympho-réticuloses, nous avons trouvé 10 fois une anomalie.

Si l'on s'en réfère aux seules réticuloses malignes, type histiomonocytaire, c'est 9 fois sur 13 qu'une anomalie était notée dont 5 syndromes hémolytiques à auto-anticorps chauds et 2 syndromes hémolytiques « probables ».

C'est dire la fréquence des complications hémolytiques auto-immunes dans ces affections.

3. Les affections ganglionnaires malignes.

Les affections ganglionnaires malignes (Hodgkin, réticulo ou lympho sarcome) ne comportaient que 9 fois une anomalie sur 29 cas, dont 1 syndrome hémolytique vrai.

En ce qui concerne la maladie de Hodgkin plus particulièrement, nous n'avons trouvé que 4 fois sur 11 cas une anomalie non significative des tests (fragilité globulaire).

4. Les dysglobulinémies.

Les dysglobulinémies (myélomes et maladies de Waldenström) composées de 16 cas, ont montré une anomalie dans 7 cas, isolée.

La classique augmentation de la ROT (fausse en réalité car la lecture de l'hémolyse terminale est gênée par un louche sans rapport avec une résistance globulaire augmentée) n'a été trouvée que 6 fois sur 16.

5. Les autres hémopathies malignes.

A part un syndrome hémolytique à agglutinines froides, nous avons trouvé 4 fois une fragilité globulaire sur 13 myéloses aleucémiques mégacaryocytaires.

SYNDROMES HÉMOLYTIQUES SECONDAIRES AUTO-IMMUNS AU COURS DES HÉMOPATHIES MALIGNES

	à auto-Ac chauds	à auto-Ac froids	à Coombs non gamma		
			certaines	probables	possibles
Lymphoses	5	—	2	3	—
Réticuloses malignes ..	5	—	—	2	—
Adénopathies malignes	1	—	1	2	—
Leucoses aiguës	1	—	2	2	—
Myéloses aleucémiques.	—	1	—	—	—
Dysglobulinémies	—	—	—	1	—

C. — LES ANÉMIES D'ORIGINE DIVERSE (207 cas).

1. *Les mégaloblastoses.*

Les mégaloblastoses représentent 21 cas. Si dans 3 cas nous avons trouvé une fragilité globulaire initiale, nous avons surtout été frappé par la fréquence de l'hyperbilirubinémie libre : 9 cas, en précisant que ces derniers n'avaient aucune modification des résistances.

Nous pensons que cette hyperbilirubinémie traduit moins une hémolyse vraie que l'excès de produits de dégradation de l'hémoglobine au cours d'une dyshématopoïèse. Nous n'avons trouvé qu'une fois un Coombs de nature non γ , légèrement positif. Ceci contraste avec les 9 cas découverts sur 19 dans la statistique de 58. Nous pensons que cette différence est due à la plus grande sévérité avec laquelle nous jugeons la positivité de ces tests.

Les anémies hypochromes, hémorragiques ou non, représentent dans notre statistique 74 cas.

Nous avons trouvé là une fragilité globulaire osmotique seulement dans 13 cas (17 % des cas). Sans vouloir conclure formellement à une différence caractéristique sur le plan fragilité globulaire entre les anémies hypochromes hémorragiques ou non hémorragiques, nous notons seulement que sur ces 13 cas, 10 appartenaient à des anémies hypochromes non hémorragiques (chloroses), et 3 seulement à des anémies hémorragiques.

En regard de cette fragilité globulaire d'une population de G.R. (ROI diminuée), nous avons noté 21 fois l'existence d'un lot de G.R. plus résistants (ROI augmentée) que nous interprétons comme en rapport avec la réticulocytose.

2. *Les mono, bi ou pancytopenies.*

53 cas ne nous ont pas révélé d'anomalie caractéristique de nature hémolytique en dehors de 2 cas de Coombs de nature non γ positif qui d'ailleurs étaient strictement isolés biologiquement, et 3 cas d'hyperbilirubinémie libre dont la signification n'a pu être déterminée.

3. Les anémies d'étiologie diverse ou indéterminée.

Sur les 59 cas que représente cette catégorie très hétérogène, nous avons noté 2 anomalies :

- un syndrome hémolytique biologique traduit par une importante fragilité globulaire et une hyperbilirubinémie libre au cours d'une anémie myxœdémateuse ;
- un Coombs positif non γ au cours d'une anémie de Blackfan-Diamond.

D. — LES AFFECTIONS HÉPATO-BILIAIRES.

Les affections hépato-biliaires représentent 151 cas.

En dehors de l'augmentation assez franche des résistances globulaires au cours des rétentions biliaires que nous avons déjà notées, et d'un test de Coombs non γ (positif) dans un ictère au Largactyl, nous n'avons pu retenir d'anomalie notable.

L'étude plus précise des cirrhoses (53 cas) ne nous a pas permis de retenir d'anomalie en dehors d'un cas de fragilité globulaire.

E. — LES CANCERS.

Sur les 45 cancers que nous avons eu l'occasion d'examiner, nous n'avons trouvé qu'une anomalie qui mérite d'être signalée, c'est la fréquence de l'augmentation de la RM (9 cas sur les 34 où elle a été mesurée), sans pour autant que l'on puisse en inférer sa signification ; il n'existait de rétention biliaire que dans 2 cas.

F. — LES MALADIES DIVERSES.

Les maladies diverses représentent la plus forte population de notre étude (248 cas).

Nous avons essayé de les diviser en sous-groupes pour simplifier l'exposé.

Les insuffisances rénales aiguës ou chroniques (55 cas). Nous n'avons pas trouvé d'anomalie caractéristique en dehors

de 2 tests de Coombs non γ dont nous n'avons pas retenu, en dehors de tout autre signe biologique, la signification hémolytique.

Les maladies infectieuses et parasitaires, compte non tenu, bien entendu, des septicémies hémolytiques ni du paludisme (62 cas).

Nous n'avons pas trouvé d'anomalie remarquable en dehors d'un fragilité globulaire dans 6 cas et de l'existence de 2 Coombs non γ correspondant, l'un à une E. I., l'autre à une syphilis, sans que rien d'autre ne nous autorise à conclure à une hémolyse ou à son absence.

SYNDROMES HÉMOLYTIQUES SECONDAIRES AUTO-IMMUNS EN DEHORS DES HÉMOPATHIES

	à auto-Ac chauds	à auto-Ac froids	à Coombs non gamma		
			certain	probables	possibles
Collagénoses	1	—	—	2	—
Anémies diverses	—	—	1	—	5
Maladies diverses	2	1	2	—	8
Affections virales	—	—	2	—	—

Les maladies inclassables (131 cas).

Leur diversité considérable ne permet pas de tirer de conclusion d'ensemble.

Nous pensons que l'énumération des maladies où nous avons rencontré des fragilités globulaires d'ailleurs rares (10 cas) serait fastidieuse, de même que la liste des affections où nous avons trouvé une hyperbilirubinémie libre sans autre signe d'hémolyse, et qui étaient représentées le plus souvent par des ictères du nouveau-né sans iso-immunisation.

CONCLUSIONS

Nous avons étudié quelques tests d'hémolyse pratiqués de façon systématique et routinière chez 1 000 malades différents, à l'exclusion des iso-immunisations tant néonatales que transfusionnelles.

I. — La pratique de ces tests nous a permis de montrer que :

- l'hyperbilirubinémie libre isolée ne permet pas d'assurer à elle seule le diagnostic positif d'hémolyse pathologique et qu'il est nécessaire de recouper ce signe d'hypercatabolisme hémoglobinique par au moins un signe de régénération sanguine (réticulocytes) ;
- les anomalies des résistances globulaires, lorsqu'elles sont associées à un autre signe biologique d'hémolyse, ont une valeur diagnostique considérable, mais moins dans le sens étiologique que dans le sens du diagnostic positif ;
- la résistance osmotique est habituellement recoupée par la RM dans la mesure où l'on compare cette dernière à la ROM.

Dans les sphérocytoses héréditaires, la RM révèle plus souvent une fragilité globulaire que la ROM mais moins souvent que la ROI ;

- la RA semble être le seul critère diagnostique de la maladie de Marchiafava-Micheli ;
- la positivité du test de Coombs peut être un stigmate d'hémolyse immunologique quand elle se produit avec un sérum « anti- γ -globuline ». Par contre, sa positivité avec un sérum « anti-non- γ -globuline » est plus difficile à interpréter.

II. — Cette étude de 1 000 examens effectués au cours d'un intervalle de temps de plus d'un an nous a permis de découvrir

139 maladies hémolytiques dont 72 primitives congénitales ou acquises, et 67 secondaires à des affections variées.

III. — Outre les syndromes hémolytiques secondaires vrais, nous avons pu mettre en évidence des anomalies des tests qui apportent une « note hémolytique » dans un certain nombre d'affections, en particulier dans les hémopathies malignes.

Vu, LE DOYEN :
J.-F. CIER.

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE :
P^r P. CROIZAT.

Vu et permis d'imprimer :
Lyon, le 22 décembre 1964.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT
DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ:
P. LOUIS.

BIBLIOGRAPHIE

Ce travail n'ayant pas l'intention d'être exhaustif, nous avons limité la bibliographie au maximum. Le lecteur trouvera une bibliographie complète des problèmes de l'hémolyse dans le livre de DACIÉ dont nous donnons la référence ci-dessous.

- ARNAUD (J.). — *Intérêt et valeur du dosage des Bilirubines libre et conjuguée ns le sérum*. Thèse Lyon, 1963.
- BERTHAUX (P.). — *Etude critique des maladies par auto-anticorps*. In « *La maladie lupique*. » Expansion scientif., édit., Paris, 1963, p. 136.
- BILLING (B. H.) et LATHE (G. M.). — Bilirubin metabolism in Jaundice. *Amer. J. Med.*, 1958, 24, 11.
- BOUCHIER (I. A. D.), RHODES (K.), SHERLOCK (S.). — Serological abnormalities in patient with liver disease. *Brit. Med. J.*, 1964, 1, 592.
- BURNET (F. M.) et MACKAY (L. R.). — Lympho-epith structures and auto-immune disease. *Lancet*, 1962, 1030.
- BOUVET (R.). — *Etude statistique de 100 cas de L. myéloïde et de leur traitement radiothérapique*. Thèse Lyon, 1955.
- CAZAL (P.). — *Erythrocytes et Erythrocyopathies*. Masson, édit., 1957.
- CROIZAT (P.), NOEL (G.) et REVOL (L.). — *Hématologie clinique*, tome III. Camugli, édit., Lyon.
- CROSBY (W. M.) et DAMESHEK (W.). — The significance of hemoglobinuria and associated hemosiderinuria, with particular reference to various types of hemolytic anemia. *J. Lab. Clin. Med.*, 1951, 38, 829.
- DACIÉ (J. V.). — *The haemolytic anaemias congenital and acquired*. Part I. *The congenital anaemias*. Churchill, édit., Londres, 1960.
- DACIÉ (J. V.). — *The haemolytic anaemias congenital and acquired*. Part II. *The auto-immune anaemias*. Churchill, édit., Londres, 1962.
- DAMESHEK (W.), SCHWARTZ (R. S.). — Leukeumia and auto-immunization some possible relation ship. *Blood* 1959, 14, 1280.
- DICKSTEIN (B.), LANDMESSER (W. E. Jnr.), LOVE (W. E.), WILSON (Th.) et WOLMAN (I. J.). — The osmotic resistance of human erythrocytes in normal, carrier and anemic states. *Amer., I Med. Sci.*, 1949, 217, 53.

- EHRENSTEIN (G. V.) et LOCKNER (D.). — Sites of physiological breakdown of red cells survival in vivo. *Nature* (Lond.), 1958, 181, 911.
- EVANS (R. S.) et WEISER (R. S.). — The serology of auto-immune hemolytic disease : observations on forty-one patients. *Arch. Intern. Med.*, 1957, 100, 371.
- HEGLIN (R.) et MAIER (C.). — The « heat resistance » of erythrocytes. A specific test for the recognition of Marchiafava's anemia. *American J. Med. Sci.*, 1944, 207, 624.
- JOUVENCEAUX (A.) et REVOL (L.). — A propos du traitement et de la surveillance de la Maladie hémolytique du nouveau-né. Micro (et macro) dosage de la Bilirubine. *Presse Médicale*, 1957, 65, 1440.
- JOUVENCEAUX (A.) et REVOL (L.). — Diagnostic d'une anémie hémolytique. *Ceuvre Médicale*, 1964, 11, 29.
- GUEST (G. M.). — Osmometric behavior of normal and abnormal human erythrocytes. *Blood*, 1948, 3, 541.
- LEJEUNE (E.). — *Les syndromes hémolytiques acquis. Etude clinique et immunologique à propos de 28 observations.* Thèse Lyon, 1954.
- MIESCHER (P.). — Le mécanisme de l'érythroclasié à l'état normal. *Rev. Hémat.*, 1956, 11, 248.
- ROSENTHAL (M. C.), PISCIOTTA (A. V.), KOMNINOS (Z. D.), GOLDBERG (H.) et DAMESHEK (W.). — The auto-immune hemolytic anemia of malignant lymphocytic disease. *Blood*, 1955, 10, 197.
- REVOL (L.), LEJEUNE (E.), BRIZARD (C. P.), JOUVENCEAUX (A.) et PERLIN (N.). — Contribution à l'étude systématique des tests globulaires et sériques dans les syndromes hémolytiques (à propos d'une statistique de 2 400 examens). *Sang*, 1958, 29, 416.
- SCHAUB (F. Von) et MAIER (C.). — Zur klinischen Bedeutung der Mechanischen Resistenz der roten Blutkörperchen. *Acta Haemat.* (Basel), 1956, 15, 20.
- VIDEBAEK (A.). — *Auto-immune haemolytic anaemia in a medical department.* Proc. of 8th Congress of the Europ. soc. of haemat. Vienne, 1961. Karger, édit., p. 317.
- VIDEBAEK (A.). — Auto-immune haemolytic anaemia in system lupus erythematosus. *Acta Med. Scand.*, 1962, 171, 187.
- WEBSTER (S. M.). — Heinz Body phenomenon in erythrocytes. *Blood*, 1949, 4, 479.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	15
CHAPITRE PREMIER. — <i>Rappel physio-pathologique</i>	17
— Physiologie de l'hémolyse normale	17
— Hémolyse pathologique	18
CHAPITRE II. — <i>Les tests pratiqués</i>	29
— Les tests globaux	29
— Les tests à visée étiologique	34
— Les résultats de ces techniques chez des sujets normaux ..	41
CHAPITRE III. — <i>Etude analytique des tests pratiqués dans la popu- lation étudiée</i>	49
— Bilirubine libre	51
— Résistance osmotique	52
— Résistance mécanique	56
— Résistance acide	58
— Test de Coombs	59
— Agglutinines froides	61
— Hématies trypsinisées	61
— Hémoglobine F	62
CHAPITRE IV. — <i>Etude synthétique des tests d'hémolyse</i>	63
— Les syndromes hémolytiques vrais	63
Les maladies hémolytiques primitives	63
Les maladies hémolytiques secondaires	69
— Le profil hémolytique biologique des différentes maladies.	75
CONCLUSIONS	81
BIBLIOGRAPHIE	83

IMPRIMERIE BASCOU FRÈRES
42, rue Sala — LYON
Dépôt légal : 1^{er} trimestre 1965

11 580

